



UNIVERSITAT<sub>DE</sub>  
BARCELONA

## **Fenotips d'immunodeficiència comuna variable (IDCV) en pacients pediàtrics. Correlació genotip-fenotip en l'evolució clínica i el tractament dels pacients**

Mònica Piquer Gibert



Aquesta tesi doctoral està subjecta a la llicència **Reconeixement- NoComercial – Compartir Igual 4.0. Espanya de Creative Commons.**

Esta tesis doctoral está sujeta a la licencia **Reconocimiento - NoComercial – Compartir Igual 4.0. España de Creative Commons.**

This doctoral thesis is licensed under the **Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0. Spain License.**



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

**Fenotips d'immunodeficiència comuna variable (IDCV)  
en pacients pediàtrics. Correlació genotip-fenotip en  
l'evolució clínica i el tractament dels pacients**

Tesi presentada per

Mònica Piquer Gibert

**Dirigida per:**

Dra. M<sup>a</sup> Anunciación Martín Mateos

Dr. Manel Juan Otero

**Tutora:**

Dra. Ofelia Cruz Martínez

Programa de Doctorat de Medicina i Recerca Translacional

Facultat de Medicina i Ciències de la Salut

2017



**SJD** Sant Joan de Déu  
Barcelona · Hospital



*Dedico la meva tesi doctoral:*

*als meus pares, per haver-me educat en l'estimació, el respecte,  
la perseverança, l'esforç i la llibertat de pensament,*

*a les meves filles, la Júlia i l'Ariadna, per ser el millor regal  
que ningú pugui desitjar,*

*al meu marit per acompanyar-me en el camí,*

*i a tres metges, però sobretot persones, que malauradament ja no són amb nosaltres  
que han influït en el meu camí en la vida i en la pediatria,  
l'Emilio Atauri, l'Orenci Altirriba i el José Ignacio Sierra*





## Agraïments

A la meva directora de tesi, la Maruja, per haver-me acompanyat al llarg de tot el projecte, per la seva dedicació, comprensió, ajuda i suport. També li vull agrair la seva companyia al llarg de tots els anys que fa que ens coneixem, el seu exemple, el saber fer en qualsevol situació, el saber trobar sempre la paraula adequada, el fer-me costat i els seus consells com a mestre, companya i amiga, moltíssimes gràcies.

Al meu director de tesi, el Manel, per la seva ajuda, la seva implicació, el seu suport i la seva paciència al llarg de tot el projecte.

A la meva tutora, l'Ofèlia, per estar sempre disposada a col·laborar i ajudar.

Al Guillem de Valles i al Ferran Casals, del Servei de Genòmica de la Universitat Pompeu Fabra, per la seva col·laboració en el projecte de recerca i per la seva sempre predisposició a ajudar, ha estat un plaer treballar amb vosaltres.

A tots els meus companys i amics de la Secció d'Immunoal·lèrgia, per donar-me suport al llarg del projecte, en especial a la Maite, la meva companya dels dimecres i a l'Angi, pel seu suport estadístic però sobretot per les nostres xerrades. A tots, perquè en la nostra diversitat puguem seguir formant part d'un equip on ens agrada estar i amb futur.

Als professionals dels laboratoris de Sant Joan de Déu i del Clínic, per la seva col·laboració i ajuda, sobretot a l'Imma Ferrer, pel seu suport i cooperació en explicar-me les tècniques, en la recerca d'informació i per la seva paciència.

A la meva germana i als meus amics per donar-me suport al llarg dels anys, quan cal i el que cal. En especial a les amigues de l'*Equilibrista* i *Pitxurris* pels seus ànims i confiança, i a l'Oriol per la seva paciència i el seu ajut informàtic incondicional.

Als pacients i les seves famílies per la seva disposició per col·laborar en els projectes de recerca ja que sense ells no ens seria possible avançar. Així com a la resta de professionals de l'hospital que col·laboren en la cura d'aquests pacients.



## Índex



<b>Abreviatures .....</b>	<b>7</b>
<b>1. Antecedents del tema i situació actual .....</b>	<b>15</b>
1.1 Descripció .....	15
1.2 Epidemiologia .....	16
1.3 Característiques clíniques .....	17
1.3.1 Antecedents familiars .....	17
1.3.2 Exploració física .....	18
1.3.3 Manifestacions clíniques .....	18
1.3.3.1 Infeccions .....	18
1.3.3.2 Malaltia pulmonar crònica .....	19
1.3.3.3 Malaltia gastrointestinal .....	20
1.3.3.4 Autoimmunitat .....	21
1.3.3.5 Hiperplàsia limfoide .....	22
1.3.3.6 Malaltia al·lèrgica .....	22
1.3.3.7 Malaltia hepàtica .....	23
1.3.3.8 Malaltia granulomatosa .....	23
1.3.3.9 Malignitat .....	23
1.4 Característiques immunològiques .....	24
1.4.1 Conceptes generals bàsics de la immunitat .....	24
1.4.1.1 Limfopoesi en el fetus .....	25
1.4.1.2 Desenvolupament dels limfòcits B .....	26
1.4.2 Avaluació en la IDCV .....	28
1.4.2.1 Immunoglobulines i anticossos .....	28
1.4.2.2 Poblacions limfoides .....	29
1.5 Diagnòstic .....	31
1.5.1 Diagnòstic probable .....	32
1.5.2 Diagnòstic possible .....	32
1.6 Diagnòstic diferencial .....	32
1.6.1 Hipogammaglobulinèmia secundària .....	32
1.6.1.1 Disminució en la producció .....	33
1.6.1.2 Augment de les pèrdues .....	33
1.6.2 Hipogammaglobulinèmia primària .....	33
1.6.2.1 Agammaglobulinèmia .....	33
1.6.2.2 Hipogammaglobulinèmia transitòria de la infància .....	34

1.6.2.3 Deficiència de subclasses d'IgG .....	34
1.6.2.4 Deficiència selectiva d'anticossos .....	34
1.6.2.5 Síndrome d'hiperIgM .....	34
1.6.2.6 Malaltia limfoproliferativa lligada a X .....	35
1.6.2.7 Immunodeficiències combinades .....	35
1.7 Classificacions .....	35
1.7.1 Classificació de Freiburg .....	35
1.7.2 Classificació de Paris .....	36
1.7.3 EUROclass .....	36
1.7.4 Classificació Pediàtrica .....	37
1.8 Fenotips clínics .....	38
1.9 Genètica .....	40
1.10 Tractament .....	47
1.10.1 Tractament amb gammaglobulines .....	47
1.10.2 Prevenció i tractament de les infeccions .....	48
1.10.2.1 Tractament de les infeccions .....	48
1.10.2.2 Vacunacions .....	48
1.10.2.3 Profilaxi antibiòtica .....	48
1.10.3 Tractament de les patologies associades .....	49
1.10.4 Tractament amb biològics .....	49
1.11 Pronòstic .....	50
<b>2. Hipòtesi de treball i objectius .....</b>	<b>55</b>
2.1 Hipòtesi de treball .....	55
2.2 Objectius .....	56
<b>3. Metodologia .....</b>	<b>61</b>
3.1 Pacients i material .....	61
3.2 Mètodes .....	61
3.2.1 Procediments generals .....	61
3.2.2 Laboratori .....	63
3.2.2.1 Hematologia .....	63
3.2.2.2 Bioquímica .....	64
3.2.2.3 Immunologia .....	64
3.2.2.4 Serologia-PCR .....	72
3.2.2.5 Assaig proliferació limfocitària a mitògens inespecífics .....	76
3.2.2.6 Quantificació nivells sèrics de lectina d'unió a mannososa i genotipat .....	77
3.2.2.7 Resposta vacunal per serotips de la vacuna antipneumocòccica 23-valent ..	78

3.2.2.8 Estudi mutacions genètiques .....	79
3.2.3 Radiologia .....	80
3.2.4 Funció pulmonar .....	81
3.2.5 Immunització .....	82
3.2.6 Altres .....	82
3.2.6.1 Malaltia celíaca .....	82
3.2.6.2 Diabetis mellitus .....	83
3.2.6.3 Tiroïditis .....	83
3.2.6.4 Deficiència d'hormona del creixement .....	83
3.2.6.5 AHAi, Trombocitopènia autoimmunitària i Síndrome d'Evans .....	83
3.2.6.6 Artritis idiopàtica juvenil .....	84
3.2.6.7 Limfoma .....	84
3.2.6.8 Asma .....	84
3.2.6.9 Infeccions significatives .....	84
3.2.6.10 Corbes de creixement .....	86
3.3 Estudi estadístic .....	86
3.4 Variables .....	87
<b>4. Resultats .....</b>	<b>95</b>
4.1 Històries clíniques .....	95
4.2 Resultats als objectius plantejats .....	122
4.2.1 Resultats referents a l'Objectiu específic 1 .....	122
4.2.2 Resultats referents a l'Objectiu específic 2 .....	131
4.2.3 Resultats referents a l'Objectiu específic 3 .....	163
4.2.4 Resultats referents a l'Objectiu específic 4 .....	182
4.2.5 Resultats referents a l'Objectiu específic 5 .....	194
<b>5. Discussió .....</b>	<b>205</b>
5.1 Preàmbul a la discussió .....	205
5.2 Discussió .....	206
<b>6. Conclusions .....</b>	<b>255</b>
6.1 Conclusions a l'Objectiu específic 1 .....	255
6.2 Conclusions a l'Objectiu específic 2 .....	255
6.3 Conclusions a l'Objectiu específic 3 .....	256
6.4 Conclusions a l'Objectiu específic 4 .....	256
6.5 Conclusions a l'Objectiu específic 5 .....	256
<b>7. Bibliografia .....</b>	<b>261</b>
<b>Apèndix 1: Aspectes ètics i consentiment informat .....</b>	<b>277</b>



<b>Apèndix 2: Article IDCV i limfoma .....</b>	<b>287</b>
<b>Apèndix 3: Índex de Taules .....</b>	<b>299</b>
<b>Apèndix 4: Índex de Figures .....</b>	<b>305</b>

## Abreviatures

---

Ac - anticòs, anticossos

ADA – adenosina-desaminasa

ADAM – proteïna transmembrana amb domini per a desintegrina i metal·loproteïna

AICDA o AID - citidina-desaminasa d'activació induïda (*Activation Induced Cytidine Deaminase*)

AIE - enteropatia autoimmunitària (*Autoimmune Enteropathy*)

AIJ - artritis idiopàtica juvenil

AI - malaltia autoimmunitària

AI-OE - malaltia autoimmunitària organoespecífica

AHAI - anèmia hemolítica autoimmunitària

ALAT - alanina-aminotransferasa, alanina-transaminasa

ALPS - síndrome limfoproliferativa autoimmunitària (*Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome*)

ANA - anticossos antinuclears (*Antinuclear Antibodies*)

APRIL - lligand inductor de proliferació (*A Proliferation-Inducing Ligand*)

ARM - angiografia per ressonància magnètica

5-ASA - àcid 5-aminosalicílic

ASAT - aspartat-aminotransferasa, aspartat-transaminasa

AVC - accident vascular cerebral

BAFF - factor activador de la cèl·lula B (*B-cell Activating Factor*)

BAFF-R (BR3) - receptor del factor activador de la cèl·lula B (*B-cell Activating Factor-Receptor*)

BCR- receptor dels limfòcits B (*B-Cell Receptor*)

CIT - citopènia

CMV - citomegalovirus

CNV - variació del nombre de còpies de gens (*Copy Number Variations*)

ConA - concanavalina A

CHOP - ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisona

COPADM - ciclofosfamida, vincristina, prednisolona, doxorubicina, metotrexat

CTLA.4 (CD152) – Antigen 4 del limfòcit T citotòxic (*Cytotoxic T Lymphocyte Antigen 4*)

CYVE - citarabina, etopòsid

ddNTPs - dideoxinucleòtids trifosfat (*dideoxynucleotide triphosphates*)

DE - desviació estàndard

DEFI - estudi nacional francès d'adults amb immunodeficiència primària amb hipogammaglobulinèmia

DNA - àcid desoxiribonucleic (*Deoxyribonucleic Acid*)

EEG - electroencefalograma

ESID - Societat Europea d'Immunodeficiències (*European Society for Immunodeficiencies*)

FDG-PET - fluorodesoxiglucosa-PET

FISH - hibridació in situ per fluorescència (*Fluorescence in situ hybridization*)

FR - factor reumatoïdal

FSH - hormona fol·liculostimulant (*Follicle-Stimulating Hormone*)

GGEV - gammaglobulina endovenosa

GGSC - gammaglobulina subcutània

GGT - gammaglutamiltransferasa

GLILD - malaltia pulmonar intersticial granulomatosa limfocítica (*Granulomatous Lymphocytic Interstitial Lung Disease*)

GH - hormona del creixement (*Growth Hormone*)

GWAS - estudi d'associació del genoma complert (*Genome-Wide Association Study*)

HB - hepatitis B

HC - hepatitis C

HLA - antigen leucocitari d'histocompatibilitat (*Histocompatibility Leukocyte Antigen*)

HSJD - Hospital Sant Joan de Déu

HTI - Hipogammaglobulinèmia transitòria de la infància

HVH6 - herpesvirus humà 6

HVH7 - herpesvirus humà 7

HVH8 - herpesvirus humà 8

ICOS - Co-estimulador induïble de les cèl·lules T activades (*Inducible T-cell COStimulator*)

IDCV - Immunodeficiència comuna variable

IgA - Immunoglobulina A

IgE - Immunoglobulina E

IgG - Immunoglobulina G

IgM - Immunoglobulina M

IL- interleucina

IUIS - Unió Internacional de Societats Immunològiques (*International Union of Immunological Societies*)

Iv - intravenós

LCR - líquid cefaloraquídi

LDH - lactat-deshidrogenasa

LES - lupus eritematós sistèmic

LH - hormona luteïnitzant (*Luteinizing Hormone*)

LIP - pneumònia intersticial limfocítica (*Lymphoid Interstitial Pneumonitis*)

LOCID - Immunodeficiència combinada d'inici tardà (*Late Onset Combined Immunodeficiency*)

LRBA - proteïna de fixació *beige-like* de resposta a lipopolisacàrids (*LPS Responsive Beige-Like Anchor Protein*)

MALT - teixit limfoide associat amb les mucoses (*Mucosa-Associated Lymphoid Tissue*)

MBL - lectina d'unió a mannosà (*Mannose-Binding Lectin*)

MHC - complex d'histocompatibilitat principal (*Major Histocompatibility Complex*)

NGS - seqüenciació massiva paral·lela (*Next Generation Sequencing*)

NHL - limfoma no hodgkinià (*Non-Hodgkin's Lymphoma*)

NK – cèl·lula citocida/assassina natural (*Natural Killer*)

OMS - Organització Mundial de la Salut

PAGID - Grup Panamericà d'Immunodeficiències (*Pan-American Group for Immunodeficiency*)

PET - tomografia per emissió de positrons (*Positron Emission Tomography*)

PCR - reacció en cadena per la polimerasa (*Polymerase Chain Reaction*)

PHA - fitohemoaglutinina (*phytohemagglutinin*)

PIK3R1 - subunitat reguladora p85 $\alpha$  de la 1-fosfatidilinositol-3-cinasa (*Phosphoinositide-3-Kinase Regulatory Subunit 1*)

PTI - púrpura trombocitopènica immunitària

PNP - purina-nucleòsid-fosforilasa (deficiència de PNP)

PWM - mitogen de raïm de moro, *Phytolacca americana* (*pokeweed mitogen*)

RAG - gen activador de la recombinació (*Recombination Activating Gene*)

RM - ressonància magnètica

RNA - àcid ribonucleic (*Ribonucleic Acid*)

mRNA - RNA missatger

RQ-PCR - reacció en cadena per la polimerasa en temps real

SH2D1A (SAP) - gen que codifica una proteïna que conté un domini SH2 (*SH2 Domain Containing 1A*)

SNP - polimorfisme de nucleòtid simple (*Single Nucleotide Polymorphism*)

SPECT67Ga - tomografia computada per emissió de fotó simple

TACI - activador transmembrana i modulador de calci i lligand de ciclofilina (*Transmembrane Activator and CAML Interactor*)

TAD - test d'antiglobulina directa, prova de Coombs directa

TAI - test d'antiglobulina indirecta, prova de Coombs indirecta

TC - tomografia computada

TCR - receptor dels limfòcits T (*T-Cell Receptor*)

TLR - receptor de tipus Toll (*Toll-Like Receptor*)

TNF - factor de necrosi tumoral (*Tumor Necrosis Factor*)

TNFRSF13B - receptor del factor de necrosi tumoral de la superfamília 13B (*TNF Receptor Superfamily Member 13B*)

TRECS - cercles d'excisió del receptor de cèl·lules T (*T cell receptor excision circles*)

T reg - cèl·lula T reguladora

TSH - hormona estimulant de la tiroide, tirotropina

T4 - tiroxina

UCI - unitat de cures intensives

UNG - gen que codifica una uracil-DNA glicosilasa (Uracil Nucleoside Glycosylase, Uracil DNA Glycosylase)

VEB - virus d'Epstein-Barr

VEF1 - volum expiratori forçat en el primer segon

VIH - virus de la immunodeficiència humana

VSG - velocitat de sedimentació globular

VVZ – virus varicel·la-zòster

WES - seqüenciació d'exoma complert (*Whole Exome Sequencing*)

WGS - seqüenciació del genoma complert (*Whole Genome Sequencing*)

XIAP (BIRC4) - proteïna de la família de les proteïnes supressores d'apoptosi (*X-Linked Inhibitor of Apoptosis Protein*)

XLP - Malaltia limfoproliferativa lligada a X

## **Antecedents del tema i situació actual**





## 1. Antecedents del tema i situació actual

---

### 1.1 Descripció

La immunodeficiència comuna variable (IDCV) és una alteració immunològica històricament definida de manera heterogènia sota criteris globals, caracteritzada per un defecte en la producció d'anticossos en relació a infeccions sinopulmonars recurrents, trastorns autoimmunitaris, malaltia granulomatosa i augment del risc de neoplàsies.

La IDCV es defineix pels següents criteris: pacient masculí o femení amb una marcada disminució de la concentració sèrica de la immunoglobulina G (IgG) (com a mínim 2 desviacions estàndard (DE) per sota de la mitjana de la seva edat), en combinació amb nivells baixos d'immunoglobulina A (IgA) i/o immunoglobulina M (IgM), endemés de: 1- Inici de la immunodeficiència en majors de 2 anys d'edat, 2- Manca d'isoaglutinines o resposta pobra o absent a les immunitzacions, i 3- Exclusió d'altres causes d'hipogammaglobulinèmia conegudes. El diagnòstic és probable si es compleix tot l'anterior i possible si hi ha una marcada disminució (com a mínim 2 DE per sota de la mitjana de la seva edat) en un dels principals isotips d'immunoglobulines (IgM, IgG i IgA) associat als altres 3 criteris (1). El març de 2014 el Registry Working Party de l'ESID (*European Society for Immunodeficiencies*) va establir uns nous criteris diagnòstics més restrictius per registrar els pacients d'una manera més estandarditzada (2), tot i que no s'ajusten als criteris d'ús clínic habitual, que segueixen sent els descrits prèviament.

Tot i ser una entitat reconeguda des dels anys 50, la seva fisiopatologia segueix sent de manera general desconeguda. La seva heterogeneïtat clínica indica que diversos defectes d'immunoregulació poden confluir en hipogammaglobulinèmia com a via comuna final. Així, el que coneixem com a IDCV correspon a un grup d'alteracions que tenen en comú el defecte en la producció d'immunoglobulines i la desregulació en les respostes immunitàries.

Després de la primera publicació de dèficit d'immunoglobulines per Bruton el 1952 es van succeir una sèrie d'articles on els investigadors havien analitzat els nivells

d'immunoglobulines en els seus pacients amb susceptibilitat a patir infeccions (3). El 1953, Olhagen publicà pacients de sexe femení i masculí amb inici a l'edat adulta afectes d'IDCV (4). La classificació de les immunodeficiències d'anticossos era complexa donada la manca de tècniques adequades per a la correcta determinació d'immunoglobulines i la desconeixença de les subclasses de limfòcits. A mitjans dels anys 60, Rosen i Janeway van fer una subdivisió de les síndromes per dèficit d'anticossos en 6 formes. La classificació actual data de 1973, i es va actualitzant cada 2 anys (5). El Comitè d'Experts d'Immunodeficiències Primàries es va reunir inicialment sota els auspicis de l'Organització Mundial de la Salut (OMS) el 1973, per descriure i classificar els diferents tipus de defectes immunitaris primaris que afecten els éssers humans. La classificació de les malalties reconegudes en el moment de la publicació es recolliren en una publicació (5). No obstant això, durant la dècada de 1990 l'OMS va prendre la decisió pràctica de concentrar-se en les malalties més comunes, de manera que l'IUIS (*International Union of Immunological Societies*) va acordar assumir les competències d'aquest comitè, que va ser formalitzat durant la 54a reunió del Consell IUIS a Tapei el 2008. Aquesta classificació ha estat revisada cada dos anys, la darrera es publicà el 2015 (6).

## 1.2 Epidemiologia

La IDCV s'estima que afecta 1 de cada 25.000 (10.000-100.000) individus (7)(8). Estudis com el realitzat a Dinamarca a nivell nacional i publicat el 2017 amb una prevalença de pacients amb IDCV d'1:26.000 mostren les dificultats de registre i identificació d'aquests pacients (9). Sembla que hi ha una major incidència en nord-europeus, en general, en caucàsics respecte altres races. En la base de dades de la Societat Europea d'Immunodeficiències (ESID), és (tot i ser una malaltia minoritària/rara i per tant de baixa freqüència) el diagnòstic més freqüent, representant el 20% dels pacients registrats. Les diferències de prevalença, la variabilitat intrínseca en la clínica i el retard diagnòstic que s'evidencia en la majoria de sèries publicades suggereixen que sigui una malaltia infradiagnosticada.

El debut de la malaltia, segons una cohort americana amb 248 pacients, segueix una distribució bimodal. Mostra 2 pics, un entre l'any i els 5 anys de vida i el segon als 18-25

anys, podent presentar-se a qualsevol edat de la vida (alguns parlen de un tercer pic a l'edat adulta sobre els 40 anys, tot i ser discutit per molts especialistes, doncs serien els quadres més imprecisos). La majoria de pacients debuten després de la pubertat i es diagnostiquen entre la segona i tercera dècada de la vida (10). En una publicació posterior, en una cohort europea amb 413 pacients, es va trobar que l'edat d'inici seguia una corba contínua, amb una edat mitjana de 35,5 anys i una mediana de 33 anys (7). De tota manera, un percentatge important dels pacients inicien els símptomes durant la infància i la pubertat, amb la dificultat d'establir el diagnòstic per sota dels 6 anys per la possibilitat de tractar-se d'una immunodeficiència transitòria de la infància o d'una deficiència d'IgA. En l'anàlisi dels 2.212 pacients del registre de l'ESID el 33,7% presenten l'inici dels símptomes abans dels 10 anys (11). Distribució igualitària entre els dos sexes, tot i que hi ha un predomini d'homes (2:1) per sota dels 11 anys i un discret predomini de les dones a partir dels 30 anys (1,3:1) (11). Habitualment els pacients presenten símptomes secundaris a la hipogammaglobulinèmia consistents en infeccions de repetició del tracte respiratori i/o digestiu. També es descriuen malalties autoimmunitàries i/o limfoproliferatives, podent ser el primer símptoma. Donat que les manifestacions clíniques de la IDCV poden afectar diferents òrgans i/o sistemes, els pacients poden ser avaluats per diferents especialistes fins arribar al diagnòstic. Aquesta variabilitat en la presentació clínica sovint comporta un retard en el reconeixement i diagnòstic de la malaltia. En la majoria de sèries aquest retard és de 4-8 anys des de l'inici dels símptomes, tot i que en nens petits és menor (7)(11)(12)(13).

## **1.3 Característiques clíniques**

### **1.3.1 Antecedents familiars**

Diferents sèries apunten que fins el 90 % dels pacients afectes d'IDCV semblen tenir la malaltia degut a mutacions *de novo*, mentre que en els restants es defineix almenys un membre de la família afecte d'IDCV o de deficiència selectiva d'IgA, mostrant per tant un patró d'herència familiar (que pot ser autosòmica dominant o autosòmica recessiva). Els familiars de pacients amb IDCV podem presentar un ampli ventall d'alteracions immunitàries humorals, incloent la IDCV, la deficiència selectiva d'IgA, la deficiència de

subclasses d'IgG, la deficiència selectiva d'anticossos amb immunoglobulines normals o hipogammaglobulinèmia (menys de 2 DE per sota dels nivells normals). La freqüent relació familiar entre la IDCV i la deficiència d'IgA suggereix que els dos trastorns clínics poden representar una condició al·lèlica reflectint l'expressió variable d'un defecte comú (14)(15).

### **1.3.2 Exploració física**

Quan un pacient presenta característiques clíniques d'IDCV s'ha de realitzar una avaluació física; s'ha de fer una exploració física completa que pot ser normal o presentar signes i símptomes de malaltia crònica (per exemple: retràs de creixement en nens o pèrdua de pes en adults). També es pot trobar mucositat o congestió nasal secundàries a sinusitis crònica, cicatrius en la membrana timpànica i/o acropàquia com expressió de malaltia pulmonar o hepàtica crònica. Altres troballes que poden estar presents en l'exploració física són: limfadenopatia, esplenomegàlia, artritis, escleritis o alteracions cutànies associades a malaltia autoimmunitària.

### **1.3.3 Manifestacions clíniques:**

Els pacients amb IDCV presenten característicament infeccions de repetició, tanmateix l'evidència de desregulació immunitària en aquesta malaltia condiona l'aparició d'autoimmunitat, malalties inflamatòries i/o malignitat. Els pacients que debuten amb clínica de desregulació immunitària poden no presentar infeccions recurrents.

#### **1.3.3.1 Infeccions (16)(17)**

Els pacients presenten infeccions de repetició que afecten sobretot al tracte respiratori i digestiu. El fenotip és molt ampli, des de pacients amb infeccions bacterianes fins a individus que es comporten com immunodeficiències combinades. En la IDCV hi ha una susceptibilitat augmentada a infeccions per bacteris encapsulats (*Streptococcus pneumoniae* i *Hemophilus influenzae*), però també es descriuen infeccions per espècies de *Mycoplasma* i *Ureaplasma*. Les infeccions oportunistes per virus i/o fongs són poc freqüents, però s'han descrit infeccions per *Cryptosporidium*, *Pneumocystis* o virus herpes

zòster, aquest tipus d'infeccions han de fer pensar en la possibilitat d'una immunodeficiència combinada o un diagnòstic diferent a IDCV.

Les infeccions més freqüents són les sinopulmonars que inclouen pneumònia, bronquitis, sinusitis, otitis i conjuntivitis. Poden presentar-se de forma aguda, crònica o recurrent. Endemés dels bacteris encapsulats són freqüents les infeccions víriques, sobretot els rinovirus.

Les infeccions gastrointestinals agudes poden estar causades per norovirus, *Campylobacter jejuni* o *Salmonella*. En la diarrea crònica cal cercar la giàrdia, el citomegalovirus (CMV) i rarament *Cryptosporidium* o norovirus. Sovint en els símptomes gastrointestinals crònics no es troba una causa infecciosa.

Altres infeccions menys freqüents són les infeccions del tracte urinari, les artritis sèptiques o les meningitis/sèpsies bacterianes.

### **1.3.3.2 Malaltia pulmonar crònica (16)(17)**

Representa un problema freqüent en els pacients amb IDCV, s'associa a elevada morbiditat i és una de les causes principals de mortalitat.

Es descriuen diversos tipus de malaltia pulmonar:

- Malaltia obstructiva: Demostrada per patró obstructiu en l'espirometria es presenta en pacients amb asma o bronquièctasis. Es considera que les bronquièctasis són secundàries a les infeccions pulmonars recurrents i a una manca de control en la resposta inflamatòria.
- Malaltia restrictiva: Els canvis restrictius en el patró respiratori s'associen principalment a infiltrats limfocítics i/o granulomatosos que es mostren en les tècniques d'imatge com a patró reticular, nodular i/o en vidre desllustrat, característiques de la malaltia pulmonar intersticial.
- Malaltia granulomatosa: Afecta entre el 8 i el 22 % dels pacients amb IDCV, desenvolupant granulomes no caseosos. La presentació més freqüent és amb limfadenopaties, esplenomegàlia i símptomes pulmonars. Així, característicament

es troben granulomes a pulmó, ganglis limfàtics i melsa, però es poden trobar en molts altres òrgans. La malaltia granulomatosa s'associa a autoimmunitat (púrpura trombocitopènica immunitària (PTI), anèmia hemolítica autoimmunitària (AHAI)) en algunes cohorts. A nivell pulmonar, els granulomes s'acompanyen amb freqüència d'infiltrats limfoides anomenant-se malaltia pulmonar intersticial granulomatosa limfocítica (GLILD, *Granulomatous Lymphocytic Interstitial Lung Disease*). En una sèrie de pacients amb GLILD, en la biòpsia pulmonar s'observa que en 11 dels 12 pacients endemés de granulomes presenten bronquiolitis fol·licular i pneumònia intersticial limfocítica. La malaltia granulomatosa pulmonar així com la resta de malalties infiltratives limfocitàries pulmonars representen un repte terapèutic. S'han provat tractaments amb hidroxicloroquina, corticoides, inhibidors del factor de necrosi tumoral (TNF), ciclosporina, però no hi ha assajos controlats.

Els estadis inicials de la malaltia pulmonar crònica poden ser asimptomàtics, i a la tomografia computada es poden identificar alteracions no visibles en la radiografia simple o a les proves de funció pulmonar. Es recomana la realització d'una tomografia computada toràcica en el diagnòstic de la IDCV per tenir informació basal i poder comparar en un futur, però no està establert amb quina freqüència s'hauria de repetir en pacients sense símptomes.

### **1.3.3.3 Malaltia gastrointestinal**

La malaltia gastrointestinal està present en el 9-20 % dels pacients segons la sèrie (10)(11)(18). Pot ser el primer o inclús l'únic símptoma de la IDCV. El símptoma més comú és la diarrea aguda o crònica que pot associar-se a malabsorció i/o pèrdua de pes. En els casos més greus presenten dèficits vitamínics i electrolítics importants. L'enteropatia en la IDCV té una elevada taxa de mortalitat no associada a malignitat, possiblement per la malabsorció (17).

S'han descrit infeccions gastrointestinals per patògens comuns (bacteris, protozous i virus) que acostumen a respondre als tractaments habituals.

Les patologies no infeccioses són diverses: hiperplàsia nodular limfoide, malaltia inflammatòria intestinal-like, celiaquia-like, anèmia perniciosa, gastritis atròfica, granulomes, colitis limfocítica i limfoma gastrointestinal. Tot i que la IgA juga el seu paper en la defensa a nivell de mucoses, les dades del registre de l'ESID associen els nivells baixos d'IgM i no d'IgA a l'enteropatia (11). També les alteracions en la immunitat cel·lular poden contribuir a aquesta patologia (16).

La malaltia inflammatòria intestinal de budell prim es presenta entre el 4 i el 12 % dels pacients (17). També s'anomena enteropatia autoimmunitària associada a IDCV (AIE, *AutoImmune Enteropathy*). A les biòpsies es troba atròfia vellositària, alteració de les criptes amb augment de limfòcits (habitualment cèl·lules T CD8), agregats limfoides i disminució de cèl·lules plasmàtiques (17). La disminució en les cèl·lules plasmàtiques i la presència o no de marcadors HLA associats a celiaquia podria ajudar a distingir les dues entitats. És una enteropatia que no respon a la dieta d'exclusió de gluten.

També la malaltia inflammatòria intestinal de budell gruixut està present en la IDCV, mimetitzant tant la colitis ulcerosa com la malaltia de Crohn. El seu tractament es realitza amb fàrmacs com el 5-ASA (àcid 5-aminosalicílic) i/o corticoides no absorbibles (budesonida). També s'utilitzen immunomoduladors (azatioprina) i anticossos monoclonals (infliximab).

La hiperplàsia nodular limfoide és relativament freqüent als pacients amb IDCV, s'ha descrit en el 8% dels pacients i la seva etiologia es desconeix (12).

#### **1.3.3.4 Autoimmunitat**

Entre el 25 i el 30% dels pacients amb IDCV presenten autoimmunitat. Aquesta pot ser la clínica de presentació i sovint aquests pacients no mostren infeccions de repetició (18), però sí s'ha descrit associació a enteropatia (11). Poden presentar citopènies autoimmunitàries o malaltia autoimmunitària organoespecífica.

L'anèmia hemolítica autoimmunitària (AHAI), la púrpura trombocitopènica immunitària (PTI) o totes dues (síndrome d'Evans) són les formes de malaltia autoimmunitària més freqüents; la neutropènia autoimmunitària està descrita en menor freqüència. En tot cas



un gran nombre de malalties autoimmunitàries s'han observat en pacients amb IDCV: artritis seronegativa, malaltia inflammatòria intestinal, anèmia perniciosa, síndrome de Sjögren, uveïtis, vasculitis, tiroïditis, alopecia, vitiligen, hepatitis, cirrosi biliar primària o lupus eritematós sistèmic (LES), així com, neuropatia autoimmunitària i artritis idiopàtica juvenil (AIJ) en nens. Diabetis insulíndependent, psoriasi, celiaquia, hipotiroïdisme o artritis seropositiva no semblen augmentades en els pacients amb IDCV (17).

#### **1.3.3.5 Hiperplàsia limfoide**

La hiperplàsia limfoide cervical, mediastínica i abdominal conjuntament amb la presència o no d'esplenomegàlia es troben almenys en el 20% dels pacients amb IDCV. En la cohort de l'ESID un 26% dels pacients presenten esplenomegàlia (11). En les biòpsies ganglionars es descriu habitualment hiperplàsia limfoide atípica, hiperplàsia limfoide reactiva o infiltració granulomatosa. Són característics la disminució de les cèl·lules plasmàtiques i la presència de centres germinals mal definits en el teixit limfoide (19). S'ha d'estudiar la clonalitat dels limfòcits, tot i que la seva troballa no és diagnòstica de limfoma, ja que es pot trobar en la hiperplàsia reactiva. També s'aconsella l'estudi de RNA del virus d'Epstein-Barr (VEB) per hibridació in situ.

S'ha descrit una associació positiva entre esplenomegàlia i enteropatia, autoimmunitat i granulomes (11). Les descripcions histològiques de la melsa després d'esplenectomia mostren lesions granulomatoses, polpa vermella congestiva, hiperplàsia fol·licular i atròfia de centres germinals/polpa blanca. Aquestes anomalies poden contribuir al segrest esplènic i causar trombopènia (17).

#### **1.3.3.6 Malaltia al·lèrgica**

Els pacients amb IDCV poden presentar símptomes de malaltia al·lèrgica, sobretot asma i rinitis. Estudis del grup d'Agondi en pacients adults demostren asma al·lèrgica en el 6,5% dels pacients, sent un 22,2% dels que presenten clínica suggestiva, l'estudi també mostra com pacients amb història suggestiva d'al·lèrgia respiratòria amb IgE total disminuïda o indetectable i IgE específica negatives presenten símptomes a la prova de provocació bronquial específica (20). Un altre estudi mostra que el 81,9% dels pacients presenten

rinitis crònica, el 41 % d'aquests amb clínica suggestiva de rinitis al·lèrgica i confirmen l'etiologia per immunoglobulina E (IgE) específica en el 5,6% dels pacients (21).

En la cohort pediàtrica d'Urschel el 38 % dels pacients presenten malaltia al·lèrgica (al·lèrgia alimentària, èczema, urticària, rinitis i asma) (22) i en la d'Ogershok el 83% tenen asma, un amb rinitis al·lèrgica confirmada i un altre amb dermatitis atòpica, però la majoria presenten asma no al·lèrgica relacionada amb infeccions respiratòries (23).

Sens dubte la participació de malalties mitjançades per IgE constitueix una contradicció conceptual en pacients amb defecte en la resposta humoral, tot i que ha estat demostrada en alguns pacients.

### **1.3.3.7 Malaltia hepàtica**

Aproximadament el 10% dels pacients amb IDCV presenten alteració hepàtica (10)(24). La majoria dels pacients presenten augment dels enzims hepàtics, sobretot de la fosfatasa alcalina. La troballa més característica en la biòpsia és la hiperplàsia nodular regenerativa (24). Un estudi recent mostra que tot i que alguns pacients es mostren estables, una part important d'aquest pacients poden progressar a una malaltia més greu com hepatitis autoimmunitària i/o hipertensió portal (17). Una part d'aquests pacients presenten hipersplenisme amb neutropènia i desenvolupen infeccions. Així, la hiperplàsia nodular regenerativa pot no ser benigna i representar una complicació de la IDCV potencialment mortal.

També s'ha descrit hepatitis autoimmunitària, granulomatosa o infecciosa (obliga a descartar hepatitis B, hepatitis C, virus d'Epstein-Barr i citomegalovirus) i cirrosi biliar primària (25).

### **1.3.3.8 Malaltia granulomatosa**

Descrita a l'apartat de malaltia pulmonar crònica.

### **1.3.3.9 Malignitat**

El càncer de qualsevol tipus està augmentat en els pacients amb IDCV respecte la població general, presentant-se en el 6 al 9% dels pacients (17). El limfoma no hodgkinià i

el càncer gàstric són els descrits amb major freqüència; altres tipus de càncer (colon, mama, ovari, pròstata, mieloma múltiple, melanoma) s'han descrit en pacients amb IDCV però el seu baix nombre fa difícil establir si realment estan incrementats en aquests pacients.

Els limfomes no hodgkinians són majoritàriament d'origen extranodal, ben diferenciats, de cèl·lules B i virus d'Epstein-Barr negatius (26). Sembla que la causa d'aquest increment de malignitat seria multifactorial, incloent l'estimulació antigènica crònica per infeccions, les anomalies genètiques i la desregulació immunitària (27).

En una cohort de 334 pacients amb IDCV, la infiltració limfocítica policlonal s'associava a un augment del risc de 5 vegades de malignitat limfoide (7); també existia correlació entre els nivells d'IgM elevats i el desenvolupament d'infiltració limfocítica policlonal o malignitat limfoide.

Alguns estudis han descrit un augment del risc de càncer gàstric en pacients amb IDCV. L'augment d'anèmia perniciosa i d'infecció per *Helicobacter pylori* s'han relacionat amb aquest risc. La infecció per helicobàcter s'ha associat significativament amb gastritis atròfica multifocal i aquesta amb el càncer. De tota manera en publicacions recents sembla que ha disminuït la freqüència d'aquest càncer: de 476 pacients amb IDCV un 0,6% amb diagnòstic de càncer gàstric i un 6,7% desenvoluparen limfoma no hodgkinià (8). Curiosament, en la cohort de l'ESID el nombre de tumors sòlids (5%) sobrepassa el de limfomes (3%) (11).

Hi ha poques dades en pacients pediàtrics: en una sèrie de 32 pacients, 4 desenvoluparen càncers durant el seguiment: 2 malaltia de Hodgkin, 1 limfoma no hodgkinià i 1 limfoma de Burkitt (22). En una altra sèrie pediàtrica, un pacient va presentar un sarcoma previ al diagnòstic d'IDCV (23).

## **1.4 Característiques immunològiques**

### **1.4.1 Conceptes generals bàsics de la immunitat (28)**

La defensa en front de microorganismes infecciosos es realitza a través de barreres físiques anatòmiques (pell, mucoses, moc, cèl·lules epitelials ciliades) i diferents

components del sistema immunitari. El sistema immunitari dels vertebrats engloba dos mecanismes de resposta fonamentals: la immunitat innata i la immunitat adquirida. La immunitat innata respon a la infecció amb independència de l'exposició prèvia al microorganisme implicat i comprèn distints tipus de leucòcits polimorfonuclears, cèl·lules dendrítiques i fagocítiques, receptors que reconeixen patrons de perill (antígens comuns) als microorganismes patògens (receptors *toll*), el sistema de complement i els limfòcits citocides naturals (NK, *natural killer*). La immunitat adquirida o adaptativa és una resposta més tardana, però molt específica que depèn dels limfòcits T i els limfòcits B.

#### **1.4.1.1 Limfopoesi en el fetus (28)**

El sistema immunitari humà sorgeix a l'embrió a partir del teixit associat al tub digestiu. Les cèl·lules mare hematopoètiques pluripotents apareixen per primera vegada al sac uterí a les 2,5-3 setmanes de gestació, emigren al fetge fetal en la cinquena setmana de gestació i després resideixen a la medul·la òssia on romanen tota la vida. Les cèl·lules mare limfocitàries apareixen a partir d'aquestes cèl·lules precursors i donen lloc als limfòcits T, B i cèl·lules NK. El desenvolupament dels òrgans limfàtics primaris (timus i medul·la òssia) comença a meitat del primer trimestre de gestació. El dels òrgans limfàtics secundaris (melsa, ganglis limfàtics, amígdales, plaques de Peyer i làmina pròpia) es desenvolupen poc després i funcionaran com a òrgans de diferenciació de limfòcits T, B i cèl·lules NK al llarg de la vida. Els limfòcits T i B són els únics que tenen capacitat per reconèixer antígens específics i són els responsables de la immunitat adaptativa. Tot i que les cèl·lules NK també deriven de les mateixes cèl·lules mare hematopoètiques, intervenen en la defensa innata d'infeccions víriques, en la vigilància de tumors i la regulació immunitària. Els limfòcits i algunes de les cèl·lules amb les que interaccionen sintetitzen i secreten citocines fonamentals per aquest desenvolupament i la posterior diferenciació (les citocines són proteïnes amb la capacitat d'actuar de forma autocrina, paracrina o endocrina per facilitar la diferenciació, coordinació i proliferació de cèl·lules del sistema immunitari).

#### 1.4.1.2 Desenvolupament dels limfòcits B (29)

**Maduració central:** a partir de les cèl·lules mare pluripotents i de forma antígen-independent es desenvolupen les cèl·lules pro i pre-B en el moll d'os. Les cèl·lules pro-B es caracteritzen per expressar el primer marcador de superfície específic de les cèl·lules B, el CD22. Posteriorment les cèl·lules pro-B i pre-B precoç inicien el muntatge del receptor dels limfòcits B (BCR). La reordenació completa de la cadena pesada i l'aparellament amb la cadena lleugera substitutiva o subrogada a la superfície formen el receptor de la cèl·lula pre-B (pre-BCR). Aquesta expressió permet la selecció positiva induint proliferació i diferenciació. Després de diversos cicles d'expansió, les cadenes lleugeres kappa o lambda substitueixen la cadena lleugera substitutiva, permetent l'expressió en superfície de la IgM, marcador de les cèl·lules B immadures. Al mateix temps, l'expressió del BCR complert en superfície facilita per primera vegada la selecció negativa antígen-específica per eliminar autorreactivitat. En aquest punt finalitza el desenvolupament central de la cèl·lula B, cap de les cèl·lules descrites fins el moment es detecten a la circulació. La cèl·lula transicional B abandona el moll d'os i passa a la circulació per completar la seva maduració en els òrgans limfàtics secundaris (principalment la melsa).

**Maduració perifèrica:** Entre el 10 i el 20% dels limfòcits B preimmunes/verges arriben a la melsa. La major part són destruïts per presentar BCR autoreactius, però els que no són autoreactius passen per diferents estadis de desenvolupament: arriben a la melsa com a cèl·lules B transicionals 1 i allà passen a expressar el receptor del factor activador de la cèl·lula B de la família TNF (BAFF-R) a la superfície (i s'anomenen cèl·lules B transicionals 2). El BAFF-R (o BR3), que pertany a la família dels receptors del TNF, regula la supervivència de la cèl·lula B en aquest estadi i més endavant participa en la seva diferenciació. Després d'aquest pas, el compartiment de cèl·lules B madures inclou les cèl·lules B fol·liculars i les de zona marginal.

Les cèl·lules B de zona marginal ( $CD27^+IgM^{hi}$ ) representen el 15-25% de les cèl·lules B circulants en el nadó, disminuint percentualment amb l'edat conforme disminueixen els limfòcits B preimmunes. En tot cas la seva localització és principalment esplènica. Els limfòcits B marginals presenten un nombre elevat de BCR específics per polisacàrids i per això, la seva disminució s'ha associat a una pobre resposta vacunal al pneumococ

polisacàrid; però realment es troben presents en els nens durant els seus dos primers anys de vida, tot i encara no respondre correctament.

**Figura 1.1:** Desenvolupament de la cèl·lula B i subtipus de cèl·lules B (30):

HSC: cèl·lules hematopoètiques precursors; GC: centres germinals; PC: cèl·lules plasmàtiques; CSR: limfòcits B de memòria amb canvi d'isotip; FO: cèl·lules B fol·liculars; MZ: cèl·lules B marginals.

centre germinals que estan especialitzats en recombinació, canvi de classe, hipermutació somàtica, maduració, selecció i expansió de clons de cèl·lules antígen específiques. La interacció amb els limfòcits T permet la seva supervivència i l'adquisició de les característiques de cèl·lules B memòria. Altres estímuls (com IL4, IL21) fan que part de les cèl·lules del centre germinal evolucionin a cèl·lules plasmàtiques.

#### **1.4.2 Avaluació en la IDCV**

La IDCV es considera una alteració en la diferenciació de la cèl·lula B, que comporta la impossibilitat de diferenciació a cèl·lula plasmàtica i per tant la manca de producció d'anticossos.

##### **1.4.2.1 Immunoglobulines i anticossos (Ac) (31)**

L'avaluació de laboratori inicial ha d'incloure els nivells d'immunoglobulines, la resposta a vacunes i excloure altres causes d'aquestes alteracions. L'anàlisi bàsica amb recompte hemàtic, fórmula leucocitària, sèrie plaquetar, bioquímica sèrica, electròlits i analítica d'orina són normals, excepte si presenten alguna malaltia associada.

Els nivells d'immunoglobulines sèriques estan disminuïts en els pacients amb IDCV. Els nivells d'IgG han de trobar-se per sota del límit de normalitat (rang de normalitat definit com 2 desviacions estàndard per sobre i per sota de la mitjana ajustada per la edat) i generalment són inferiors a 400 mg/dL en adults. La valoració en nens sempre s'ha de fer respecte el rang de normalitat de l'edat. També la IgA i/o la IgM es troben per sota del límit de normalitat. Es necessari confirmar els nivells d'immunoglobulines amb una segona determinació per assegurar que són persistentment baixos (i descartar possibles errors de laboratori). En cas de malaltia concomitant que es podria considerar causa d'hipogammaglobulinèmia s'hauria de repetir la determinació aproximadament 3 mesos després de la resolució de la malaltia. En aquest sentit cal tenir present que si bé la presència d'infecció aguda o l'administració de corticoides sistèmics per períodes curts no afecten els nivells d'IgG, algunes infeccions cròniques i l'administració de corticoides sistèmics de manera crònica si poden disminuir els nivells d'IgG. Els pacients amb IDCV poden presentar nivells d'IgM normals, disminuïts o augmentats; aquesta darrera condició (nivells alts d'IgM) obliga a descartar altres diagnòstics (síndrome d'HiperIgM).

També cal determinar IgE, que pot ser d'utilitat per excloure altres diagnòstics i pot indicar malaltia atòpica.

Les isoaglutinines (anticossos naturals IgM en front al grup sanguini) habitualment es troben disminuïdes o absents i per això la seva determinació també s'empra com a criteri diagnòstic de la IDCV.

La resposta vacunal s'avalua tant per a vacunes proteiques com polisacàrides, excepte en els casos de pacients amb nivells d'IgG molt baixos (<200 mg/dL o <100 mg/dL (17)) o indetectables on habitualment s'assumeix que la resposta vacunal serà deficient. Les malalties agudes i el tractament amb corticoides sistèmics (<40mg al dia de prednisona o equivalent) no acostumen a alterar la resposta vacunal. Com l'alteració en la resposta vacunal afecta tant vacunes proteiques com polisacàrides, habitualment s'avalua la resposta a: tètanus, diftèria i pneumocòccica polisacàrida. L'avaluació de la resposta polisacàrida es pot realitzar en pacients a partir dels 2 anys d'edat. En ocasions resulta difícil la interpretació d'una resposta vacunal alterada en nens menors de 6 anys per la possibilitat de considerar patològic el que pot ser una immaduresa del sistema immunitari. Per aquest motiu, es considera que els nens amb hipogammaglobulinèmia transitòria de la infància poden presentar una resposta vacunal deficient fins als 5 anys d'edat.

#### **1.4.2.2 Poblacions limfoides**

La majoria de pacients tenen un nombre normal de limfòcits T i B circulants. En canvi, presenten nivells disminuïts de limfòcits B de memòria circulants, sobretot de l'isotip de cèl·lules B de memòria commutades (*switched memory*). Alguns pacients presenten funció cel·lular T alterada. També s'han descrit alteracions en els nivells de citocines (com una menor capacitat de les cèl·lules dendrítiques per secretar IL-12) (31).

##### **1.4.2.2.1 Estudis de cèl·lules B**

És necessari fer una quantificació de les cèl·lules B ja que la seva absència exclouria el diagnòstic d'IDCV. L'estudi per citometria de flux de les subclasses de cèl·lules B no és necessari per al diagnòstic, tot i que és útil per excloure altres patologies i en el cas



d'IDCV permet classificar els pacients oferint informació en quan al seu pronòstic. Així, tenim tres tipus d'estudis principals:

- a. Quantificació de limfòcits B: Necessària per al diagnòstic diferencial amb l'agammaglobulinèmia.
- b. Proves de funció de cèl·lules B (estimulació amb mitogen *pokeweed* (PWM)).
- c. Fenotip/subpoblacions B: Es realitzarà sempre que sigui possible ja que pot aportar informació pronòstica. És freqüent trobar un dèficit de cèl·lules B CD27<sup>+</sup>IgM<sup>-</sup>IgD<sup>-</sup>, memòria commutades i també de cèl·lules plasmàtiques (25). Un estudi pediàtric associa el dèficit de CD27<sup>+</sup>IgM<sup>-</sup>IgD<sup>-</sup> (<5 cèl·lules/ $\mu$ L) amb major incidència de meningitis, sèpsia, bronquièctasi, malaltia granulomatosa pulmonar, citopènies autoimmunitàries i malignitat hematològica (32). Una sèrie posterior mostra que aquestes complicacions no estan restringides a aquest grup de pacients (33). Així aquesta determinació ajuda a detectar pacients de risc, però hi ha altres paràmetres a definir per detectar la resta de grups de risc.
- d. Altres estudis: Senyalització de TLR (*Toll-like receptor*) (34)(35): La unió del RNA viral al TLR7 o del DNA bacterià al TLR9 inicia la resposta cel·lular B, comportant: activació de cèl·lules B, secreció de citocines, proliferació i supervivència. S'ha descrit que els pacients amb IDCV tenen alterada la maduració de les cèl·lules B, la funció del TLR7 i TLR9 en les cèl·lules B i les cèl·lules dendrítiques està afectada. Tot i que s'ha demostrat alteració en la funció TLR en la IDCV no s'ha definit el mecanisme que la produeix.

#### **1.4.2.2.2 Estudi de cèl·lules T**

La seva avaluació era útil per detectar pacients amb risc de complicacions greus, però no era necessària com a criteri diagnòstic. Els nous criteris diagnòstics suggerits per l'ESID (2014) i pel grup DEFI (2015) fan necessari aquest estudi per excloure els pacients considerats com immunodeficiència combinada (36). El nombre de cèl·lules T disminueix amb el temps, per tant, els pacients s'han de reavaluar de forma periòdica, sobretot si presenten infeccions.

- a. Quantificació de cèl·lules T: Els pacients amb nombre disminuït de cèl·lules T tendeixen a presentar complicacions infeccioses greus. Seria adequat determinar el nombre de cèl·lules almenys de CD3, CD4 i CD8. Si estan disminuïts està indicat estudiar la funció immunitària cel·lular. La ràtio de cèl·lules T CD4/CD8 pot estar disminuïda per disminució de CD4 o per augment del nombre de CD8 (25).
- b. Proves de funció T: Es realitzaria determinant la proliferació de limfòcits T mitjançant estimulació per mitògens [fitohemoaglutinina (PHA), concanavalina A (ConA), *pokeweed* (PWM)] i antígens (com toxoide tetànic i *Candida albicans*). Permet decidir quins pacients necessiten profilaxi per a alguns patògens com el *Pneumocystis jirovecii* (37).
- c. S'han descrit altres alteracions dels limfòcits T en pacients amb IDCV (38):
  - i. Disminució del nombre de cèl·lules T reguladores (Treg)
  - ii. Reducció del nombre de cercles d'excisió del receptor de cèl·lules T (TRECS), suggerint desregulació tímica
  - iii. Dèficit de cèl·lules T antígen activades post-estimulació.
  - iv. Reducció de la producció per les cèl·lules T o de l'expressió d'interleucina-12 (IL-12) i altres citocines
  - v. Defecte de transducció de senyals del TCR
  - vi. Disminució de la capacitat de les cèl·lules dendrítiques per secretar IL-12

Si bé, la malfunció T és sovint evidenciable en els pacients amb IDCV, en general és un element variable i poc específic.

## 1.5 Diagnòstic

El diagnòstic s'estableix pels criteris diagnòstics consensuats per la Societat Europea d'Immunodeficiències/Grup Panamericà d'Immunodeficiències (ESID/PAGID) (1).

### **1.5.1 Diagnòstic probable**

Pacient femení o masculí amb marcada disminució dels nivells d'IgG (com a mínim 2 DE per sota de la mitjana de la seva edat) i marcada disminució dels nivells com a mínim d'un dels isotips IgA o IgM (com a mínim 2 DE per sota de la mitjana de la seva edat), endemés de complir els següents criteris:

- i. Aparició de la clínica suggestiva d'immunodeficiència a partir dels 2 anys de vida
- ii. Absència d'isoaglutinines i/o resposta pobre en anticossos a les vacunacions, i
- iii. Exclusió d'altres causes definides d'hipogammaglobulinèmia.

### **1.5.2 Diagnòstic possible**

Pacient femení o masculí amb marcada disminució (com a mínim 2 DE per sota de la mitjana de la seva edat) almenys d'un dels isotips majors (IgG, IgA o IgM), endemés de complir els següents criteris:

- i. Aparició de la clínica suggestiva d'immunodeficiència a partir dels 2 anys de vida
- ii. Absència d'isoaglutinines i/o resposta pobre en anticossos a les vacunacions, i
- iii. Exclusió d'altres causes definides d'hipogammaglobulinèmia.

## **1.6 Diagnòstic diferencial**

La hipogammaglobulinèmia és la principal característica de laboratori en la IDCV. Donat que la IDCV és un diagnòstic d'exclusió, cal descartar la resta de causes conegudes d'hipogammaglobulinèmia, tant primària com secundària.

### **1.6.1 Hipogammaglobulinèmia secundària (31)**

Existeixen un gran nombre de situacions associades a hipogammaglobulinèmia secundària, poden ser causades per disminució en la producció o per augment de les pèrdues.

#### **1.6.1.1 Disminució en la producció**

- i. Fàrmacs: sobretot immunosupressors, com són: corticoides, tractament amb anticossos monoclonals com el rituximab, antiepilèptics (carbamazepina, fenitoïna), antimalàrics, captopril, sals d'or, sulfasalazina, penicil·lamina, fenclofenac.
- ii. Neoplàsies i alteracions paraneoplàstiques: per exemple leucèmia limfocítica crònica, limfoma, mieloma múltiple, histiocitosi de cèl·lules de Langerhans o macroglobulinèmia de Waldenström.
- iii. Malalties sistèmiques que comporten supressió del moll d'os.
- iv. Timoma amb hipogammaglobulinèmia (síndrome de Good).
- v. Infeccions: virus de la immunodeficiència humana (VIH), infeccions congènites (rubèola, CMV, Toxoplasma gondii), virus d'Epstein-Barr.

#### **1.6.1.2 Augment de les pèrdues**

- i. Enteropaties amb pèrdua de proteïnes com la limfangiectasi intestinal
- ii. Síndrome nefròtica
- iii. Cremades o traumatismes que comportin pèrdua de fluids.

#### **1.6.2 Hipogammaglobulinèmia primària (37)**

Existeixen altres immunodeficiències primàries on es detecten disminucions significatives dels nivells d'IgG en sèrum que poden anar acompanyades de disminucions o augments d'IgA o IgM.

##### **1.6.2.1 Agammaglobulinèmia**

La forma clàssica és la lligada a X o malaltia de Bruton cursa amb cèl·lules B disminuïdes o absents i es causada per defectes en el gen de la tirosina quinasa produint una greu hipogammaglobulinèmia. També existeixen formes autosòmiques recessives (AR) causada per mutacions en gens que contribueixen a la maduració i funció de les cèl·lules B (cadena

pesada  $\mu$ ,  $\lambda$ 5, Ig $\alpha$ , Ig $\beta$ , BLNK, ...). Clínicament es diferencia de la IDCV pel debut a època de lactant, teixit limfoide hipoplàstic i disminució intensa de tots els isotips d'immunoglobulines. Habitualment el nombre de limfòcits B és menor al 2%; en canvi en la IDCV els nivells són normals o discretament disminuïts, en casos excepcionals són  $\leq$  a l'1% i és necessari descartar la malaltia de Bruton.

#### **1.6.2.2 Hipogammaglobulinèmia transitòria de la infància (HTI)**

Els nens afectes d'HTI tenen nivells baixos d'IgG, IgA i habitualment d'IgM, que es normalitzen entre els 24 mesos i els 6 anys, endemés presenten una resposta adequada a les vacunes i una funció immunitària cel·lular normal. Per contra, en la IDCV l'alteració en la resposta vacunal és persistent i fins al 40% de pacients mostren disfunció cel·lular.

#### **1.6.2.3 Deficiència de subclasses d'IgG**

La deficiència d'IgG<sub>1</sub> pot condicionar hipogammaglobulinèmia ja que representa quasi les 2/3 parts dels valors d'IgG en sèrum. La deficiència de la subclasse IgG<sub>2</sub> també pot provocar un dèficit lleu de la IgG en sèrum amb una resposta vacunal minsa. Les deficiències de subclasses poden trobar-se associades a deficiència d'IgA presentant alguns pacients una pobra resposta a les immunitzacions.

#### **1.6.2.4 Deficiències selectives d'anticossos**

Es caracteritzen per infeccions sinopulmonars recurrents però cursen amb nivells normals d'immunoglobulines. Mostren incapacitat per produir anticossos específics per als antígens polisacàrids i/o als antígens proteics o una pèrdua precoç dels anticossos específics.

#### **1.6.2.5 Síndrome d'hiperIgM**

La majoria dels casos estan causats per defectes en el CD40 lligand (malaltia lligada a X) on no es produeix el canvi d'isotip d'IgM a IgA o IgG. També és pot produir per defectes genètics AR que afecten l'àcid nucleic modificador d'enzims anomenats AICDA o AID (*Activation Induced Cytidine Deaminase*) o UNG (*Uracil Nucleoside Glycosylase*). Si no funcionen AICDA o UNG no es produeix el canvi de classes, i les cèl·lules B només poden produir IgM. Aquest pacients debuten amb clínica d'infeccions sinopulmonars greus per

bacteris encapsulats, característics de les deficiències d'anticossos. També presenten: infeccions gastrointestinals (inclosa la giardiosi), meningitis bacterianes, encefalitis virals i infeccions greus pel virus de la hepatitis B, i associen major susceptibilitat a la hiperplàsia de nòduls limfàtics i les malalties autoimmunitàries. Analíticament mostren nivells d'IgG <200 mg/dL, IgA <20 mg/dL i IgM entre 100 i 3.700 mg/dL, no hi ha resposta IgG específica d'anticossos i el nombre de cèl·lules T i B circulants és normal conservant la funció T.

#### **1.6.2.6 Malaltia limfoproliferativa lligada a X (XLP)**

Alteració rara de disfunció immunitària que comporta limfoproliferació, fallada hepàtica, hipogammaglobulinèmia i/o limfoma. La infecció pel virus d'Epstein-Barr és el desencadenant de les anomalies clíniques i immunològiques. Entre els gens responsables hi ha *SH2D1A* i *XIAP*. S'ha de descartar en els casos de pacients masculins amb antecedents d'hepatitis viral o altres manifestacions suggestives, així com d'història familiar de morts prematures en homes.

#### **1.6.2.7 Immunodeficiències combinades**

S'ha de descartar: formes lleus de deficiència d'adenosina-desaminasa (ADA), deficiència de purina-nucleòsid-fosforilasa (PNP), mutacions hipomorfes de *RAG* (gen activador de la recombinació) i defecte d'Artemis.

### **1.7 Classificacions**

Donada la heterogènia de la IDCV s'han fet diferents intents de classificació, la primera anomenada de Freiburg data del 2002. Va ser el moment on la difusió i estandardització de la citometria de flux va permetre classificar els pacients amb IDCV segons el fenotip dels limfòcits B (29).

#### **1.7.1 Classificació de Freiburg**

La classificació de Freiburg (2002) divideix els pacients en 3 grups analitzant l'expressió d'IgM, IgD, CD27 i CD21.

- Grup 1: cèl·lules B memòria commutades (CD27+IgD-IgM-) molt disminuïdes, <4% dels limfòcits.
  - Grup 1a: augment del nombre de cèl·lules B amb baixa expressió de CD21 (cèl·lules B CD21<sup>low</sup>) > 20%. Major incidència d'esplenomegàlia i de malaltia granulomatosa.
  - Grup 1b: cèl·lules B CD21<sup>low</sup> normals o discretament augmentades.
- Grup 2: nivells pràcticament normals de cèl·lules B memòria commutades, suggerint un defecte posterior al centre germinal. El 25% dels pacients analitzats.

### 1.7.2 Classificació de Paris

La classificació de Paris (2003) divideix els pacients en funció dels canvis en el fenotip dels limfòcits B de memòria.

- Grup MB0: disminució del nombre de cèl·lules B CD27<sup>+</sup> < 11% de les cèl·lules B. Aquest grup agrupava els pacients amb esplenomegàlia.
- Grup MB1: reducció selectiva de les cèl·lules B memòria commutades, amb cèl·lules B CD27<sup>+</sup> > 11% i cèl·lules B memòria commutades < 8%.
- Grup MB2: pacients que no complien cap dels criteris anteriors.

### 1.7.3 EUROclass (2008) (39)

En la classificació de l'EUROclass es van analitzar 303 pacients majors de 6 anys (10-84, 47±17), diagnosticats d'IDCV procedents de 8 centres europeus. L'anàlisi dels paràmetres clínics i immunològics mostrà que les poblacions de cèl·lules B més rellevants eren les cèl·lules B memòria commutades, les cèl·lules B transicionals i les cèl·lules B CD21<sup>low</sup>, per aquest motiu són la base de la classificació. Els nivells de tall es van optimitzar per distingir pacients amb malaltia granulomatosa, limfadenopatia i esplenomegàlia. L'anàlisi multivariant mostra associació entre l'expansió de les cèl·lules B transicionals i la limfadenopatia, i la disminució de les cèl·lules B memòria commutades i l'esplenomegàlia.

Classificació segons les cèl·lules B transicionals:

- Grup B- :  $\leq 1\%$  cèl·lules B. 10% dels pacients.
- Grup B+ :  $> 1\%$  cèl·lules B
  - grup smB- :  $\leq 2\%$  cèl·lules B memòria commutades, subdivisió en:
    - smB-Tr<sup>norm</sup>:  $< 9\%$  de cèl·lules B transicionals
    - smB-Tr<sup>hi</sup>:  $\geq 9\%$  de cèl·lules B transicionals
  - grup smB+ :  $> 2\%$  cèl·lules B memòria commutades.

Classificació segons les cèl·lules B CD21<sup>low</sup>:

- Grup B+ :
  - grup smB- :  $\leq 2\%$  cèl·lules B memòria commutades, subdivisió en:
    - smB-21<sup>norm</sup>:  $< 10\%$  de cèl·lules B CD21<sup>low</sup>
    - smB-21<sup>lo</sup>:  $\geq 10\%$  de cèl·lules B CD21<sup>low</sup>
  - grup smB+ :  $> 2\%$  cèl·lules B memòria commutades, subdivisió en:
    - smB+21<sup>norm</sup>:  $< 10\%$  de cèl·lules B CD21<sup>low</sup>
    - smB+21<sup>lo</sup>:  $\geq 10\%$  de cèl·lules B CD21<sup>low</sup>.

Aquesta classificació és millor que les anteriors per diferenciar limfadenopatia, esplenomegàlia i malaltia granulomatosa, però cap de les classificacions permet predir autoimmunitat.

#### **1.7.4 Classificació Pediàtrica (2010) (32)**

Estudi en 45 pacients pediàtrics. Donat que els nens tenen més limfòcits B perifèrics però menys madurs que els adults, les classificacions no es poden aplicar directament. Obtingueren una distribució de cèl·lules B memòria commutades bimodal.



- Grup I (< 5 % cèl·lules B memòria commutades/ $\mu$ L): 24 pacients (53 %), menor nombre de cèl·lules B CD19<sup>+</sup>, i de cèl·lules T CD3<sup>+</sup> i CD4<sup>+</sup>. Tots els pacients presenten infeccions, incloses meningitis i sèpsia. Es descriuen les següents patologies: citopènies autoimmunitàries (n=5), asma (n=7), diarrea crònica (n=3), malaltia pulmonar crònica (n=3), neoplàsia (n=3), atòpia (n=4 èczema).
- Grup II ( $\geq$  5% cèl·lules B memòria commutades/ $\mu$ L): 21 pacients. El 90% presenten infeccions, l'asma era més representada en aquest grup però l'èczema menys, i 3 pacients es diagnosticaren d'esofagitis eosinofílica. Cap pacient amb: meningitis, sèpsia, neoplàsia, malaltia autoimmunitària, malaltia gastrointestinal, malaltia granulomatosa, esplenomegàlia ni bronquièctasis.

## 1.8 Fenotips clínics

La diversitat clínica dels pacients afectes d'IDCV fa necessari poder classificar els pacients en diferents fenotips clínics per poder establir un millor seguiment i determinar el pronòstic de cada pacient.

L'objectiu d'establir criteris per poder classificar en fenotips clínics la IDCV es va realitzar a partir del Registre Europeu d'IDCV (9 centres participants, n = 334, seguiment durant una mitjana de 25,6 anys) (7). Només les complicacions intrínsecament relacionades amb la malaltia s'utilitzaren per establir fenotips clínics. Les complicacions es van agrupar segons els resultats de l'anàlisi d'associació positiva. Les 5 categories de fenotips clínics resultants foren:

- 1- Autoimmunitat (incloent malalties autoimmunitàries organoespecífiques i citopènies),
- 2- Infiltració limfocítica policlonal (incloent granuloma inexplicat, hepatomegàlia inexplicable, limfadenopatia persistent i LIP (*Lymphoid Interstitial Pneumonitis*)),
- 3- Malignitat limfoide (casos provats i tractats),
- 4- Enteropatia inexplicable (comprovat per biòpsia i gluten-insensible), i
- 5- No complicacions relacionades amb la malaltia (només infeccions).

Bronquièctasis i esplenomegàlia no van ser utilitzades en la classificació. Les bronquièctasis per no relacionar-se amb la malaltia de base i l'esplenomegàlia per ser molt comuna i associar-se amb moltes complicacions reflectint una àmplia varietat de causes i no una relació a la patogènesi de la IDCV.

No hi ha superposició de fenotips en el 83% dels pacients de la cohort, només el 12,6% complien criteris de 2 fenotips clínics.

L'únic predictor clínic és el fenotip amb infiltració limfocítica policlonal, ja que presenta un risc augmentat 5 vegades de malignitat limfoide. Correlació significativa entre els nivells sèrics d'IgM i la infiltració limfocítica policlonal o la malignitat limfoide. L'autoimmunitat es correlaciona amb nivells baixos de cèl·lules CD8+. La major taxa de mortalitat es dona en pacients amb el fenotip d'enteropatia i el d'infiltració limfocítica policlonal.

El 2012 la publicació d'una cohort de 473 pacients amb IDCV seguits durant 4 dècades corrobora la publicació anterior, una de les seves conclusions és que el risc de mort és 11 vegades superior en els pacients amb complicacions no infeccioses (18).

El novembre de 2012 es publica una millora en els criteris per establir els fenotips clínics arrel d'agrupar els pacients de 3 cohorts (*Northem European*, n = 334; *DEFI*, n = 335; *Mount Sinai*, n = 214) (40). Els fenotips clínics queden establerts en 4 categories:

- 1- No complicacions relacionades amb la malaltia
- 2- Citopènies (trombocitopènia, anèmia hemolítica autoimmunitària (AHAI), neutropènia)
- 3- Limfoprolifерació policlonal (granuloma, LIP, limfadenopatia persistent inexplicada)
- 4- Enteropatia persistent inexplicada.

Amb aquesta nova classificació el nombre de pacients a cada cohort que només pertanyen a 1 fenotip va del 89 al 94%. L'anàlisi de les dates d'inici de les complicacions mostra que el 77% de les citopènies es presenten abans o simultàniament al diagnòstic d'IDCV, en canvi, quasi cap pacient present enteropatia de causa inexplicada en aquest

estudi. La limfoprolifерació policlonal es presenta per igual abans que posteriorment al diagnòstic d'IDCV. Pocs pacients desenvolupen les complicacions que defineixen el seu fenotip més de 15 anys després del diagnòstic. Com a indicador de fenotip, en el nou estudi, mostra: augment del 14% de risc de citopènia per a cada augment d'1 g/L d'IgG, disminució del 69% de probabilitats de limfoprolifерació per cada augment d'una unitat d'IgA, augment del 180 % de probabilitats de fenotip sense complicacions per cada augment d'1 g/L d'IgA, i augment del 50 % de la probabilitat d'hepatomegàlia per cada augment d'1 g/L d'IgM. A l'excloure l'hepatomegàlia de l'actual classificació, els valors d'IgM inicials deixen de ser predictius de fenotip limfoprolifерatiu, tot i que, els nivells baixos d'IgA es relacionen amb el fenotip limfoprolifерatiu. Es confirma que la supervivència és menor en els pacients del grup d'enteropatia, seguit del fenotip limfoprolifерatiu i de l'autoimmunitari; també mostra que la citopènia redueix l'esperança de vida.

## **1.9 Genètica**

El 10% dels pacients amb IDCV tenen com a mínim un familiar afecte d'IDCV o deficiència selectiva d'IgA, l'anàlisi d'aquestes famílies mostren un patró d'herència amb característiques d'autosòmic dominant o autosòmic recessiu. El 90% restant de pacients semblen desenvolupar-se en el context d'una mutació esporàdica (38).

Els familiars de pacients amb IDCV poden presentar un ampli ventall d'anomalies humorals, com IDCV, deficiència selectiva d'IgA, deficiència de subclasses d'IgG, deficiència selectiva d'anticossos amb immunoglobulines normals i hipogammaglobulinèmia (menys de 2 DE per sota dels valors de normalitat) (38).

Associació a HLA (16)(17)(38):

Existeix la sospita d'una base genètica comuna per a pacients amb IDCV i deficiència selectiva d'IgA donat que els pacients amb IDCV tenen familiars en primer grau afectes de deficiència selectiva d'IgA i pacients amb deficiència d'IgA poden acabar presentant panhipogammaglobulinèmia. També suggereix aquesta possible herència l'elevada incidència d'alteració en els nivells d'immunoglobulines, autoanticossos, malalties autoimmunitàries i malignitat en les famílies d'aquests pacients. En pacients amb

deficiència d'IgA o IDCV s'han detectat delecions a la regió del complex d'histocompatibilitat principal (MHC) de classe III, duplicacions o defectes en el gen *C4-A* i al·lels del pseudogen de *C2*, suggerint un possible gen susceptible en aquesta regió del cromosoma 6. Aquests estudis també mostren que hi ha un petit nombre d'haplotips d'HLA compartits pels pacients, però també en algun familiar sa, indicant que la seva presència no és suficient per expressar la malaltia. Factors ambientals (com la fenitoïna) s'han suggerit com desencadenants en pacient susceptibles.

Estudis en famílies afectes amb patró d'herència autosòmic dominant no han trobat associació amb HLA. En estudis d'anàlisi de lligament de casos-controls s'ha identificat un locus susceptible en la regió del MHC anomenant el locus *IGAD1*. Altres estudis de lligament han trobat associació a mutacions als cromosomes 4q i 16q, sense poder identificar els gens causants de malaltia. El gen *Msh5* codificat a la regió MHC de classe III regula la recombinació homòloga i pot comportar alteració en el canvi de classe de les immunoglobulines; s'ha trobat major associació a la deficiència d'IgA que a la IDCV. El ratolí genoanul·lat per *Mhs5* no presenta deficiència d'anticossos, reforçant una etiologia poligènica.

Seqüenciació de gens:

- A. Seqüenciació de 1<sup>a</sup> generació: bàsicament el mètode de Sanger va ser descrit per Frederic Sanger el 1977 i basat en l'ús de polimerases (inicialment DNA polimerases) i de dideoxinucleòtids trifosfat (ddNTPs) terminals. Es van anar produint millores en la tècnica com el canvi d'utilització de marcadors radioactius a fluorescents (1986), el seqüenciador automàtic (1987) i l'electroforesi en gel de poliàcrilàmida a capil·lar (1999).

En els pacients amb IDCV s'han descrits diversos defectes genètics que afecten a la maduració i normal diferenciació de les cèl·lules B cap a cèl·lules B de memòria. Excepte els defectes en *TACI* (activador transmembrana i modulador de calci i lligand de ciclofilina), la resta de mutacions descrites són molt infreqüents i s'observen bàsicament en famílies amb consanguinitat (38).

Molècules descrites:

- a. CD267 o TACI (*Transmembrane activator and CAML interactor*): Molècula codificada al cromosoma 17p i que s'expressa a cèl·lules B i en cèl·lules T CD4+ activades. TACI permet el canvi de classe a través dels seus lligands, l'APRIL (lligand inductor de proliferació), BAFF (*B-cell activating factor*) i CAML (*Calcium modulating ligand*). El gen que codifica TACI s'anomena també com receptor del factor de necrosi tumoral de la superfamília 13B (*TNFRSF13B*). Les mutacions en aquest gen indueixen susceptibilitat a la IDCV més que causar directament la malaltia. S'han detectat almenys 3 variants heterozigotes (C104R, A181E i ins204A) com a factors de risc per desenvolupar IDCV. S'han trobat mutacions en aquest gen en el 8-9% dels pacients amb IDCV. En algun pacient s'ha descrit en homozigositat.
- b. CD278 o ICOS (*Inducible T-cell COstimulator* o Co-estimulador induïble de les cèl·lules T): S'expressa a les cèl·lules T activades i es codifica al cromosoma 2q. El senyal generat per la unió de l'ICOS al seu lligand és important per a l'activació de les cèl·lules T col·laboradores tipus 1 i 2, així com, permetent la cooperació entre cèl·lules T i B que estimula la producció de citocines, especialment la IL-10, implicada en la diferenciació de cèl·lules B a cèl·lules plasmàtiques. S'ha descrit el dèficit en homozigosi per herència autosòmica recessiva en diversos grups familiars de la regió de la Selva Negra alemanya.
- c. CD268 o BAFF-R (*B-cell activating factor-Receptor*): El receptor del factor activador de la cèl·lula B de la família del factor de necrosi tumoral es codifica en el cromosoma 22q. Descrit en 2 germans, característicament tenien disminució d'IgG i IgM amb IgA normal. Tot i la manca de resposta T-independent contra la paret polisacàrida del pneumococ, només un presentava infeccions recurrents.
- d. CD19: S'han descrits casos de fenotip d'IDCV en pacients amb mutacions homozigotes o heterozigotes compostes en el gen *CD19* en el cromosoma

16p. El desenvolupament de la cèl·lula B precoç és normal. El CD19 forma part del complex coreceptor associat al receptor de la cèl·lula B i habitualment disminueix el llindar antigènic per a l'activació de la cèl·lula B pel seu receptor.

- e. CD81: La deleció homozigota del gen *CD81* es mostra com el dèficit de CD19 amb disminució del nombre de cèl·lules B de memòria, alteració de la resposta específica d'anticossos i absència de l'expressió de CD19 a les cèl·lules B. La molècula CD19 és necessària per a l'estabilització del receptor antigènic de la cèl·lula B i necessita el CD81 per expressar-se.
- f. CD20: S'ha descrit la mutació homozigota en el gen de CD20 que comporta un dèficit de CD20 i alteració en la resposta d'anticossos cèl·lula T independent.
- g. CD21: La mutació heterozigota del gen de CD21 s'ha descrit en un pacient amb infeccions recurrents del tracte respiratori, hipogammaglobulinèmia, diarrea crònica i esplenomegàlia.

B. El 2005 es comencen a succeir les publicacions d'una nova tècnica: la *Next Generation Sequencing* (NGS) o seqüenciació massiva paral·lela (41)(42). A diferència de la tècnica anterior (seqüenciació per Sanger) que permet seqüenciar un gen, aquestes noves tècniques permeten seqüenciar el genoma complert d'un individu. Les diferents tècniques de NGS comparteixen una estratègia comú: la preparació de la llibreria, el procés de seqüenciació pròpiament dit, la captació de la imatge i l'anàlisi de les dades. Endemés captura un espectre més ampli de mutacions i la seva major sensibilitat permet la detecció de mosaïcismes.

Aquestes noves tècniques han permès identificar nous gens implicats en la patogènesi de la IDCV i també identificar gens causants d'altres immunodeficiències primàries en pacients amb diagnòstic inicial d'IDCV.

Estudis d'associació de genoma:

Els estudis d'associació de genoma i de variació del nombre de còpies de gens (CNV) realitzats en 363 pacients amb IDCV mostren associació a la regió de MHC i amb els gens de la desintegrina i metal·loproteïnases de zinc (proteïnes de la família ADAM involucrades en la resposta immunitària). S'estudia l'heterogeneïtat de la IDCV avaluant diferents fenotips de la malaltia (s'estableixen 16 subgrups clínics) trobant-se associacions SNP (single nucleotid polymorphism) significatives per als diferents subgrups. Les anàlisis de CNV detecten 5 delecions i 11 duplicacions associades a la malaltia que suggereixen que la IDCV esdevé d'una varietat de defectes genètics. Així, l'estudi mostra múltiples nous loci susceptibles de causar IDCV d'acord amb la naturalesa heterogènia d'aquesta malaltia (43).

Seqüenciació d'exoma complert (WES):

Aquesta tècnica ha estat útil per descobrir mutacions en nous gens causants d'immunodeficiències primàries en pacient amb síndromes de causa desconeguda. També és d'ajuda en assolir el diagnòstic en alteracions genètiques desconegudes. S'ha mostrat poder arribar al diagnòstic molecular de fins el 25% dels pacients amb sospita d'alteracions genètiques. L'estudi de Maffucci mostra que amb una bona selecció de pacients es poden identificar mutacions probablement causants de malaltia en el 30% dels pacients amb diagnòstic inicial d'IDCV (44).

En les següents taules (**Taula 1.1** i **Taula 1.2**) es mostren els gens associats a formes monogèniques d'IDCV, modificades de Bogaert 2016 (45). La columna d'IUIS 2015 fa referència a com han quedat classificades aquestes malalties en la classificació d'immunodeficiències primàries de 2015, així una part important d'elles ja no només no s'engloben dintre de la IDCV sinó que tampoc a la Taula 3 de deficiència predominantment d'anticossos.

**Taula 1.1: Gens que codifiquen receptors i lligands**

Gen	Herència	Efecte en la proteïna	Inici (anys)	Nº pacients descrits a la literatura	IUIS 2015	IDCV
ICOS	AR	LOF	0/2 – 18/50	15 (7 famílies)	Taula 1	Deficiència d'ICOS
TNFRSF13B (TACI)	Mono/bial·lèlic	LOF	3/8 – 18/50	2147	Taula 3	predisposant
TNFRSF13C (BAFF-R)	Mono/bial·lèlic	LOF/GOF	0/2 - >50	>80	Taula 3	predisposant
TNFSF12 (TWEEK)	AD	LOF	0 -2	3 (1 família)	Taula 3	IDCV
CD19	AR	LOF	0/2 – 3/8	10 (7 famílies)	Taula 3	IDCV
CD81	AR	LOF	0 - 2	1	Taula 3	IDCV
CR2 (CD21)	AR	LOF	3/8 – 9/17	2 (2 famílies)	Taula 3	IDCV
MS4A1 (CD20)	AR	LOF	0 -2	1	Taula 3	IDVC
TNFRSF7 (CD27)	AR	LOF	0/2 – 9/17	17 (9 famílies)	Taula 1	Deficiència de CD27
IL21	AR	LOF/GOF	0 -2	1	Taula 1	Deficiència d'IL21
IL21R	AR	LOF	0/2 – 3/8	8 (6 famílies)	Taula 1	Deficiència d'IL21R
LRBA	AR	LOF	0/2 – 9/17	>50	Taula 1	Deficiència de LRBA
CTLA.4	AD	LOF	0/2 – 18/50	23 (12 famílies)	Taula 4	Deficiència de CTLA.4

LOF: pèrdua de funció (lost of function); GOF: guany de funció (gain of function).



**Taula 1.2:** Gens que codifiquen molècules de senyalització intracel·lular

Gen	Herència	Efecte en la proteïna	Inici (anys)	Nº pacients descrits a la literatura	IUIS 2015	IDCV
<b>PRKCD</b>	AR	LOF	0/2 - 3/8	6 (4 famílies)	Taula 4	Deficiència de PRKCδ
<b>PLCG2</b>	AD	GOF	0/2 - 9/17	30 (4 famílies)	Taula 7	PLAID
<b>NFKB2</b>	AD	LOF	0/2 - 9/17	17 (10 famílies)	Taula 3	Deficiència de NF-κB2
<b>NFKB1</b>	AD	LOF	3/8 - 18/50	18 (3 famílies)		Deficiència de NF-κB1
<b>PIK3CD</b>	AD	GOF	0/2 - 3/8	>50	Taula 3	APDS
<b>PIK3R1</b>	AD	LOF	0/2 - 9/17	12 (9 famílies)	Taula 3	APDS-like
<b>VAV1</b>	AD	LOF	18 - 50	1		Deficiència de Vav1
<b>RAC2</b>	AR	LOF	0/2 - 9/17	2 (1 família)	Taula 1	Deficiència de RAC2
<b>BLK</b>	AD	LOF	0 - 2	2 (1 família)		IDVC
<b>IKZF1</b>	AD	LOF	3/8 - >50	21 (6 famílies)		IDVC
<b>IRF2BP2</b>	AD	GOF	3/8 - 9/17	3 (1 família)		IDVC

LOF: pèrdua de funció (lost of function); GOF: guany de funció (gain of function).

## **1.10 Tractament (17)(25)(37)(46)**

El tractament de la IDCV es basa en la substitució de les gammaglobulines, la prevenció i el tractament de les infeccions, així com el monitoratge i tractament de les patologies associades.

### **1.10.1 Tractament amb gammaglobulines**

Des de la introducció del tractament amb gammaglobulines ha millorat significativament el pronòstic dels pacients amb IDCV. L'objectiu del tractament és mantenir-los lliures d'infeccions. Les gammaglobulines s'obtenen de la purificació de plasma humà, obtingut a partir de cents de donants, això assegura un ampli espectre d'anticossos protectors. Els preparats comercials contenen bàsicament IgG, petites quantitats d'IgA i traces d'IgM, conservants i estabilitzadors, aquestes característiques s'han de tenir en compte en el moment d'elegir la gammaglobulina. Totes tenen quantificats els Ac específics contra xarampió, poliovirus i l'antigen de superfície de l'HB per assegurar-ne la protecció.

El tractament substitutiu amb gammaglobulines redueix el nombre d'infeccions, l'ús d'antibiòtics i les hospitalitzacions. De tota manera no elimina del tot les infeccions i sobretot persisteix la susceptibilitat a infeccions sinopulmonars i gastrointestinals, donat que aquestes darreres es veuen poc afectades pel fet del tractament.

Algun estudi mostra disminució de la progressió de la malaltia pulmonar crònica en pacients amb IDCV amb milloria del volum expiratori forçat en el 1r segon (VEF1) i de la puntuació en la tomografia computada (TC). Les gammaglobulines sembla que també poden exercir un paper protector en la malaltia autoimmunitària, no afectant altres complicacions de la IDCV.

Les gammaglobulines es poden administrar via intravenosa o subcutània. La dosificació inicial habitual és de 300-600 mg/kg cada 3-4 setmanes per via intravenosa i de 100-200 mg/kg cada setmana per via subcutània. L'objectiu és no tenir infeccions, alguns autors aconsellen nivells d'IgG predosi >700 mg/dL, però la dosi ideal és la que manté el pacient lliure d'infeccions. S'assoleixen nivells estables aproximadament als 3 - 6 mesos i els pacients s'han de reavaluar cada 6 - 12 mesos per si és necessari ajustar dosi en funció del

pes, producció pròpia i pèrdues segons el moment evolutiu. En els pacients amb malaltia pulmonar crònica sembla que l'administració de dosis més elevades de gammaglobulines (>600 mg/kg) millora la seva evolució. Dosis molt elevades (>1 g/kg) s'utilitzen en pacients amb malaltia autoimmunitària de forma puntual o cada 3 - 4 setmanes fins la resolució. Aquestes dosificacions més elevades no són possibles per via subcutània.

### **1.10.2 Prevenció i tractament de les infeccions**

Recomanar mesures d'higiene personal (correcta higiene oral i dental) i de rentat de mans per prevenir infeccions. També és necessari el monitoratge del creixement i estat nutricional, que pot comprometre l'estat immunitari. És important la vacunació de familiars i cuidadors.

#### **1.10.2.1 Tractament de les infeccions**

És necessari identificar i tractar les infeccions precoçment per prevenir complicacions i la cronificació d'aquestes. Les infeccions més freqüents són les sinopulmonars, si podem identificar el germen elegirem antibiòtic específic i sinó per cobrir els gèrmens habitual.

#### **1.10.2.2 Vacunacions**

Diferents estudis aporten informació sobre vacunació en pacients amb IDCV, tot i que per definició les resposta vacunal està alterada, la vacunació pot reforçar la immunitat de cèl·lules T i induir la formació d'anticossos específics. Endemés no hi ha referències de reaccions adverses en aquest pacients. En pacients amb alteració important de la funció cel·lular T es pot veure afectada la seguretat en l'administració de vacunes vives. La recomanació seria la vacunació dels pacients amb les vacunes de calendari inactivades i vives (si funció T conservada), recordant la vacunació antigripal anual. Si el pacient ha de viatjar a països de risc, valorar quins tractaments antibiòtics pot necessitar i quines vacunes s'haurien d'administrar, si la seva immunitat permet administrar-les, i fer-ho amb marge de temps per comprovar resposta vacunal.

#### **1.10.2.3 Profilaxi antibiòtica**

No hi ha estudis d'ús d'antibiòtics profilàctics en pacients amb IDCV. En general, si el pacient està correctament controlat de les seves infeccions amb el tractament amb

gammaglobulines no seria necessari l'ús d'antibiòtics profilàctics. Si presenta infeccions hi ha diferents pautes en funció dels grups de treballs però cap amb estudis controlats. Alguns autors aconsellen l'administració de profilaxi contra *Pneumocystis jiroveci* en pacients amb recompte de cèl·lules CD4 menor a 200 cèl·lules/mm<sup>3</sup>.

### **1.10.3 Tractament de les patologies associades**

La IDCV requereix d'una avaluació i tractament multidisciplinari. Hi ha pacients que associen varies complicacions, és necessari el correcte diagnòstic i tractament d'aquestes patologies, així com la correcta coordinació entre especialistes. També és important assegurar el correcte seguiment d'aquest pacients quan adquireixen l'edat adulta i es realitza el pas a un centre d'adults.

### **1.10.4 Tractament amb biològics (47)**

Els avenços en biologia molecular han permès el desenvolupament de nous tractaments per a les malalties autoimmunitàries i/o limfoproliferatives. Els agents biològics actuen a 3 nivells:

- Interferència de la funció de citocines:
  - Inhibició TNF: etanercept, infliximab, adalimumab, certolizumab pegol i golimumab
  - Inhibició IL-1: anakinra, canakinumab, teràpia gènica IL-1Ra, IL-1trap
  - Inhibició via IL-6: tocilizumab.
- Inhibició de la segona senyal necessària per a l'activació de les cèl·lules T:
  - Abatacept.
- Depleció de les cèl·lules B:
  - Rituximab.

En la indicació d'aquest fàrmacs en les complicacions associades a la IDCV (citopènies autoimmunitàries, malaltia inflamatòria intestinal, artritis reumatoide, limfoma,...) s'ha

de tenir en compte que les alertes més destacades d'aquests fàrmacs són les infeccions greus i el desenvolupament de malignitat, riscos ja associats a la pròpia immunodeficiència de base.

### **1.11 Pronòstic**

El pronòstic dels pacients amb IDCV va canviar radicalment amb la instauració del tractament amb gammaglobulines, disminuint el nombre i gravetat de les infeccions així com de les complicacions associades a aquestes. La mortalitat per infecció bacteriana aguda descendí ràpidament, deixant de ser la primera causa de mortalitat per esdevenir-ho les complicacions de la malaltia pulmonar crònica i les neoplàsies.

La sèrie més nombrosa amb 473 pacients monitoritzats a llarg termini, més de 40 anys, mostra una mortalitat del 19,6% durant el seguiment, amb una mitjana d'edat de mort de 44 anys per a les dones i 42 per als homes (18). Les principals causes de mortalitat: 36% fallada respiratòria per malaltia pulmonar crònica, 29% neoplàsia (limfoma) i 9% malaltia hepàtica (hepatitis infecciosa). La supervivència a llarg termini és molt bona en pacients que només presenten infeccions de repetició. Els paràmetres immunològics al diagnòstic associats a major mortalitat són els nivells baixos d'IgG, els nivells elevats d'IgM i un baix percentatge de cèl·lules B circulants. Els nivells baixos de cèl·lules B memòria commutades s'assolien amb autoimmunitat i malaltia pulmonar crònica.

Un altre estudi de 353 pacients diagnosticats a l'edat adulta i seguiment a 40 anys, mostra mortalitat del 19,5 %, amb edats mitjanes de 54 i 53 anys, per dones i homes, respectivament (48). La principal causa de mortalitat la malaltia pulmonar crònica (30%).

Un tercer estudi amb 334 pacients atribueix la major mortalitat a enteropatia i infiltració limfocitària policlonal (7). En la recerca d'un marcador predictor de fenotips clínics, hi ha associació significativa entre l'inici tardà dels símptomes amb els fenotips no complicat i l'autoimmunitari. L'únic predictor clínic és la infiltració limfocítica policlonal amb 5 vegades més risc de neoplàsia limfoide. En quan als paràmetres de laboratori existeix una correlació significativa entre els nivells basals d'IgM i el desenvolupament d'infiltració limfocítica policlonal i la neoplàsia limfoide. L'estudi publicat el 2012 comparant les bases

de dades de DEFI i Mount Sinaí, amb el criteris de fenotips revisats, els nivells basals elevats d'IgM no s'associen a limfoprolifерació (40).

Respecte els pacients diagnosticats a l'edat pediàtrica la seva supervivència també s'ha vist prolongada significativament amb l'ús de les gammaglobulines. En la sèrie de Gathmann els pacients de sexe masculí que inicien símptomes abans dels 10 anys presenten major tendència a presentar infeccions que complicacions no infeccioses (11). De tota manera hi ha pocs estudis sobre pronòstic en pacients diagnosticats a l'edat pediàtrica. No existeix evidència de si l'evolució és millor o pitjor pel fet de diagnosticar-se a l'edat pediàtrica, tot i diagnosticant-se abans que es produeixin els canvis pulmonars estructurals. Si es diagnostiquen quan els canvis pulmonars ja estan establerts, és raonable pensar que tindran pitjor pronòstic de vida, tenint en compte els coneixements en adults.

En una sèrie pediàtrica (n = 69) seguida a llarg termini, la mitjana en el retard diagnòstic és de 4,4 anys, el 14,4% dels pacients tenen germans afectes i presenten antecedents de consanguinitat el 72,4% (13). Tot els pacients presenten infeccions al diagnòstic. El 21,7% dels pacients van morir durant els 26 anys de seguiment. Les causes més freqüents de mort són la fallada respiratòria per infecció i el limfoma.

Una sèrie de 22 pacients pediàtrics també mostra les infeccions com la manifestació més freqüent. Els pacients sense cèl·lules B de memòria presenten complicacions més greus (49). Posteriorment, la publicació de Yong (32) categoritza els pacients pediàtrics en 2 grups en funció del nombre de cèl·lules B memòria commutades, els pacients en el Grup I (<5 cèl·lules B de memòria commutades/ $\mu$ L) presenten major prevalença d'infeccions, autoimmunitat i complicacions limfoproliferatives. Cap dels pacients en el Grup II presenta malaltia autoimmunitària, granulomatosa ni neoplàsica. En una carta de resposta a aquesta publicació, van de Ven (33) confirma en la seva cohort que els pacients del Grup I tenen major prevalença de complicacions, però també descriu infeccions greus i altres complicacions en el Grup II. També s'ha analitzat la relació entre el punt del bloqueig en la maduració de les cèl·lules B i els fenotips clínics, identificant-se 6 perfils maduratiu de les cèl·lules B perifèriques associats a diferents característiques clíniques (50). Manquen estudis de seguiment a llarg termini dels pacients pediàtrics, tot i que les

publicacions semblen confirmar que els pacients pediàtrics tenen una major incidència de complicacions (17).

## **Hipòtesi de treball i objectius**





## 2. Hipòtesi de treball i objectius

---

### 2.1 Hipòtesi de treball

Existeix una gran variabilitat clínica entre els pacients pediàtrics amb diagnòstic d'IDCV, atribuïble, almenys en part, que el diagnòstic es basa en unes poques dades clíniques i immunològiques comunes a altres immunodeficiències primàries i per tant es converteix en un diagnòstic d'exclusió.

L'evolució clínica dels nens amb IDCV presenta grans diferències que fins l'actualitat no s'han pogut correlacionar amb el fenotip immunològic bàsic que s'estudia.

És necessari aprofundir en el coneixement de les alteracions immunològiques dels pacients amb diagnòstic d'IDCV per poder identificar correctament els pacients, individualitzar el tractament, i en definitiva, millorar el seguiment i per tant el pronòstic dels pacients.

El coneixement en el camp de la genètica dels pacients amb IDCV ha avançat força en els darrers anys. Des de la publicació el 2003 del primer gen identificat com causa monogènica d'IDCV (*ICOS*), però sobretot en els darrers 5 anys, gràcies a les tècniques de seqüenciació massiva, s'han identificat gens causants d'IDCV tant d'herència autosòmica recessiva com dominant. Tot i així, els pacients amb diagnòstic de causa monogènica només representen un 2 al 10% dels pacients amb IDCV. L'estudi genètic representa un camp en ple desenvolupament en l'actualitat i en el cal prosseguir l'estudi.

El panorama científic de la IDCV justifica la realització d'investigacions per precisar els aspectes clínics i immunològics d'aquest pacients, així com intentar assolir el diagnòstic de certesa.

L'Hospital de Sant Joan de Déu (HSJD) és un centre de referència on, a la Secció d'Al·lèrgia i Immunologia Clínica, es controlen pacients pediàtrics amb alteracions de la immunitat. L'Hospital Sant Joan de Déu té un conveni de col·laboració amb l'Hospital Clínic de Barcelona per a l'estudi de pacients amb immunodeficiències consolidat en la Unitat

Funcional d'Immunologia, Hospital Sant Joan de Déu-Hospital Clínic. Representant un marc adient per a la realització d'investigació en el camp de les immunodeficiències, en aquest cas, de la IDCV.

D'aquesta manera postulem com a hipòtesi d'aquesta tesi que és possible definir de manera més precisa (en concret des d'aproximacions clíniques i genètiques), l'heterogeneïtat dels pacients classificats com a IDCV.

## **2.2 Objectius**

### **Objectiu General:**

Establir els criteris informatius clínics i de laboratori que permeten una definició més precisa del diagnòstic i valoració dels pacients amb IDCV. De manera més concreta per abordar aquest objectiu general plantejo 5 objectius específics.

### **Objectiu específic 1:**

Descriure de manera estructurada els pacients en quant a filiació, característiques a l'inici i en el moment del diagnòstic de la IDCV.

- 1.1 Definir paràmetres de filiació dels pacients: raça, sexe, consanguinitat, antecedents familiars.
- 1.2 Determinar les característiques dels pacients en relació a l'edat del primer símptoma, edat al diagnòstic, retard en el diagnòstic, concentració sèrica d'immunoglobulines, resposta vacunal, presència d'isoaglutinines i inici del tractament substitutiu amb gammaglobulines.

### **Objectiu específic 2:**

Determinar les característiques clíniques dels pacients pediàtrics diagnosticats d'IDCV.

- 2.1 Descripció des les manifestacions clíniques associades a IDCV dels pacients, així com les relacionades amb els fenotips clínics publicats.

- 2.2 Descripció dels principals patrons clínics en relació a les malalties infeccioses patides pels pacients.
- 2.3 Descripció en relació a les malalties autoimmunitàries.
- 2.4 Descripció en relació a la limfoproliferació policlonal.
- 2.5 Descripció en relació a les malalties al·lèrgiques.
- 2.6 Descripció en relació a les neoplàsies.

### **Objectiu específic 3:**

Analitzar la informació de les proves de laboratori i de les proves complementàries per tal de definir distribucions i patrons de paràmetres predictius analítics o de valor diagnòstic.

- 3.1 Descripció fenotípica i funcional de les poblacions limfoides circulants (subpoblacions B i T i capacitat proliferativa).
- 3.2 Descripció de les proves complementàries realitzades: estudis de funció pulmonar, estudis d'imatge: ecografia abdominal, radiologia i/o TC toràcica.
- 3.3 Contacte amb virus limfotròfics
- 3.4 Estudis de MBL i APRIL
- 3.5 Capacitat de resposta a la vacuna antipneumocòccica 23-valent.

### **Objectiu específic 4:**

Comparació global dels paràmetres obtinguts dels pacients amb IDCV (tant per valorar si la nostra cohort de pacients mostra les característiques descrites a la literatura com per identificar possibles marcadors d'evolució i/o pronòstic). En especial es valoraran en relació al sexe, l'edat d'inici, la classificació pediàtrica de Yong, la classificació pediàtrica de Piatosa i classificació EUROclass.

**Objectiu específic 5:**

Revaluar les opcions de base genètica de cada pacient (com la IDCV és un diagnòstic d'exclusió sabem que hi ha heterogeneïtat d'opcions); en aquest sentit els objectius específics són:

- 5.1 Realitzar l'estudi genètic del nostre grup de pacients per identificar variants/mutacions que permetin confirmar el seu diagnòstic d'IDCV o poder reclassificar-lo en les noves entitats que van apareixent.
- 5.2 Avaluar les repercussions/implicacions en el tractament i pronòstic dels pacients on s'identifiquen mutacions.

## **Metodologia**



### **3. Metodologia**

---

#### **3.1 Pacients i material**

La població d'estudi es va constituir amb els pacients diagnosticats d'IDCV que realitzaven seguiment a la Secció d'Immunoal·lèrgia de l'Hospital Sant Joan de Déu de Barcelona en el moment d'iniciar l'estudi, és a dir, durant el 2011, i amb els pacients que es diagnosticaren de nou durant el període de l'estudi (2011-2014).

S'inclogueren pacients a mesura que signaven el consentiment informat per a la realització d'estudi genètic i immunològic (Apèndix 1), reclutant un total de 25 pacients.

Els estudis analítics es realitzaren a través de les mostres de sang obtingudes per venipunció en base a les extraccions de control convencional. Per tenir control sobre els estudis analítics propis (no convencionals) d'aquest estudi es disposà de la signatura del consentiment informat del pacient i/o del seu tutor legal. A continuació es detallen els procediments. En tot cas es va evitar al màxim incloure cap extracció addicional a les programades de manera convencional.

#### **3.2 Mètodes**

##### **3.2.1 Procediments generals**

Es realitza entrevista personal al pacient i la família, amb exploració física completa per aparells (incloent pes i talla).

Es va explicar que es realitzarien 2 analítiques i que el dia de la primera analítica una vegada realitzada l'extracció sanguínia, s'administraria la vacuna antipneumocòccica 23-valent (Pn23) (òbviament, excepte si hi ha contraindicació evidenciable). En els pacients que reben gammaglobulines iv l'extracció i l'administració de la vacuna Pn23 es va realitzar 2 a 4 dies previ al tractament substitutiu. A l'analítica es va sol·licitar: hemograma complet, proteïna C reactiva i/o velocitat de sedimentació globular (VSG), glucosa, paràmetres de funcionalisme hepàtic bàsic, anticossos antinuclears (ANA), poblacions limfocitàries, immunoglobulines (Ig), subclasses IgG (en pacients sense



tractament amb GGEV o GGSC), estudi subpoblacions cèl·lules B i T, quantificació de cèl·lules T reguladores, test de transformació limfocitària a mitògens inespecífics, resposta a anticossos (en front a infeccions passades o vacunes si no estan en tractament substitutiu), quantificació de nivells sèrics i genotipat de la lectina d'unió a mannanosa, reacció en cadena per la polimerasa (PCR) per a virus limfotròfics i prova de detecció del virus de la immunodeficiència humana (VIH) si procedia, resposta a vacuna antipneumocòccica de polisacàrids global (i per serotips en un subgrup) i estudi genètic.

Endemés es va sol·licitar una ecografia abdominal completa, una prova de funció pulmonar (espirometria forçada) i una prova d'imatge pulmonar (radiologia simple i/o tomografia computada toràcica), excepte en els casos que en tinguessin una realitzada recentment.

Es realitzà revisió de les històries clíniques, tant en paper com en suport informàtic.

La major part d'aquests procediments es realitzaren a l'Hospital de Sant Joan de Déu. Una part dels paràmetres de laboratori s'analitzen al Laboratori de l'Hospital de Sant Joan de Déu i l'altre al Laboratori d'Immunologia de l'Hospital Clínic de Barcelona; l'anàlisi d'herpesvirus humà 6, 7 i 8 es realitzà a Majadahonda, la resposta vacunal per serotips al laboratori de l'ErasmusMC (Rotterdam) i l'estudi genètic al Servei de Genòmica de la Universitat Pompeu Fabra.

Si del resultat de qualsevol dels procediments se'n derivà una actuació, es realitzaren les proves i tractaments adients.

Una vegada obtinguts els resultats i per poder fer anàlisi de les dades obtingudes els pacients es dividiren en 3 grups:

- **Grup 1:** pacients que en el seguiment han deixat de complir els criteris diagnòstics d'IDCV,
- **Grup 2:** pacients on s'han identificat mutacions que fan classificar-los com a no IDC, i
- **Grup 3:** pacients amb IDC.

### **3.2.2 Laboratori**

#### **3.2.2.1 Hematologia**

##### **a. Hemograma complet**

Fonament: Conjunt de magnituds hematològiques pròpies d'un estudi elemental de la sang, que inclou el comptatge cel·lular o nombre de cèl·lules (eritròcits, leucòcits i plaquetes) per litre de sang, la concentració d'hemoglobina, l'hematòcrit, els índexs eritrocítics (VCM, HCM i CCMH) i plaquetaris, així com el comptatge diferencial dels leucòcits automatitzat. La discriminació dels paràmetres hematològics es realitza a través de tres tecnologies diferents: citometria de flux-díode làser (sèrie vermella, reticulòcits, plaquetes i hemoglobina cel·lular), citometria de flux-citoquímica (tinció peroxidasa) i colorimetria (hemoglobina). El resultat s'expressa en nombre de cèl·lules per unitat de volum i multiplicades per un coeficient de calibratge. El principi de diferenciació de les subpoblacions leucocitàries està basat en les seves diferents propietats òptiques d'absorbància i dispersió d'un feix de llum degudes a la seva diferent estructura interna. Els paràmetres eritrocitaris secundaris (hematòcrit, HCM, CCMH) són calculats matemàticament a partir dels valors d'hemoglobina, hematòcrit i nombre d'hematies.

Equip: Autoanalitzador hematològic ADVIA 2120 Siemens.

##### **b. Grup sanguini i isoaglutinines**

Fonament: Grup ABO per hemaglutinació en targetes de columnes de gel. Isoaglutinines per tècnica semiquantitativa, es realitza hemaglutinació de dilucions progressives del plasma anticoagulat amb EDTA en front a hematies de grup conegut A i B en una targeta de microtúbuls plens d'un gel neutre. Al centrifugar la targeta els hematies es dirigeixen cap el fons, però si són aglutinats pel plasma queden a la columna, al no poder travessar per la mida els porus del gel.

Equip/productes: Tarjeta ID-Test Enz/Agl Frías (Ref. 005016), Diamed; Hematíes ID-Diacell ABO (A1,B) 2 x 10 mL, Diamed.

### **c. Anticossos antinuclears (ANA)**

Fonament: Els anticossos antinuclears (ANA) del sèrum s'uneixen als seus corresponents antigens presents en les cèl·lules HEp-2 mitjançant immunofluorescència indirecta: els anticossos que reconeixen es detecten mitjançant uns anticossos policlonals (antiimmunoglobulina humana) marcats amb fluoresceïna, visualitzant la reactivitat al microscopi de fluorescència.

Equip/productes: ANTINUCLEAR ANTIBODIES Hep-2 (ANA-HEp-2) de BioSystems distribuït per Palex (Ref 44547). Conjugat anti-IgG FITC, Azul d'Evans amb 0,1 % azida sòdica de MeDiCa (Ref 0902-8), subministrat per Palex. Microscopi d'epifluorescència Leica.

### **3.2.2.2 Bioquímica**

#### **a. Determinació per autoanaltzador de nivells de:**

Glucosa, aspartat-aminotransferasa (ASAT), alanina-aminotransferasa (ALAT), gammaglutamiltransferasa (GGT), lactat deshidrogenasa (LDH), fosfatasa alcalina, proteïna C reactiva i/o velocitat de sedimentació globular (VSG).

Equip: Advia de Siemens.

### **3.2.2.3 Immunologia**

#### **a. Immunoglobulines: IgG, IgA i IgM**

Fonament: Es realitza per procediment immunoturbidimètric que mesura l'augment de la terbolesa de la mostra, causada per la formació d'immunocomplexos insolubles quan l'anticòs (anti-IgA, anti-IgG o anti-IgM) s'afegeix a la mostra. La mostra que conté la immunoglobulina s'incuba en un tampó i es determina un blanc de la mostra abans d'afegir l'anticòs anti-Ig. En presència d'un excés d'anticòs, la concentració de la immunoglobulina es determina com una funció de la terbolesa. Valors de referència per edats (51), adaptats a les corbes de normalitat del laboratori de l'Hospital Sant Joan de Déu (**Taula 3.1**).

Equip: Architect c Systems®, sistema Aeroset, Abbott Diagnostics.

## **b. Immunoglobulina E (IgE)**

Fonament: La determinació d'IgE consisteix en un anàlisi de quimioimmunoluminescència en fase sòlida. La fase sòlida està recoberta d'un anticòs monoclonal específic per a la IgE que es posa en contacte amb la mostra i amb un altre anticòs monoclonal anti-IgE en fase líquida conjugat amb una fosfatasa alcalina. La mescla s'incuba durant 30 minuts a temperatura constant de +37°C i amb agitació formant un complex anomenat Sandwich. El conjugat no unit a aquest complex es separa per centrifugació i rentats successius. El substrat quimioluminescent s'hidrolitza en presència de fosfatasa alcalina per generar un producte intermedi inestable. La producció contínua d'aquest producte resulta en una emissió mantinguda de llum. El complex lligat, i per tant l'alliberament de fotons que mesura el luminòmetre, és directament proporcional a la concentració d'IgE de la mostra. Valors de referència per edats (51), adaptats a les corbes de normalitat del laboratori de l'Hospital Sant Joan de Déu (**Taula 3.1**).

Equip: Autoanalitzador Immulite 2000, Siemens.

## **c. Subclasses IgG**

Fonament: La determinació de la concentració d'antígens solubles mitjançant mètodes de nefelometria comporta la utilització d'antisèrums específics que donen lloc a complexos insolubles i un sistema automatitzat de manipulació i detecció d'aquests complexos. Quan en el nefelòmetre, el feix de llum travessa la suspensió formada, una part d'aquesta llum és dispersada i centrada en un fotodíode amb un sistema òptic de lents. La quantitat de llum dispersada és proporcional a la concentració de proteïna específica en la mostra. Les concentracions es calculen de forma automàtica sobre la base d'una corba de calibratge guardada en l'instrument. L'antigen (mostra d'IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, IgG<sub>4</sub>) s'incuba amb un tampó i es determina un blanc de mostra abans d'afegir l'anticòs. En presència d'un anticòs adequat en excés, la concentració d'IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, IgG<sub>4</sub> es poden determinar com una funció de terbolesa. La valoració es fa comparant amb un estàndard de concentració coneguda. Valors de referència de Vlug (52). (**Taula 3.2**).

Equip: Nefelòmetre Delta, Radim Group.

#### **d. Estudi subpoblacions limfocitàries**

Fonament: Es basa en la identificació d'antígens de subgrup cel·lular mitjançant anticossos marcats amb fluorocroms. Habitualment (i en aquesta tesi) es realitza la determinació en limfòcits de sang perifèrica amb el citòmetre de flux. S'utilitzen diferents combinacions d'anticossos monoclonals marcats amb els fluorocroms que s'uneixen als marcadors de superfície cel·lular per identificar les diferents poblacions. Es realitza la incubació d'anticossos monoclonals marcats amb fluorocroms i sang sencera, aquests s'uneixen específicament als antígens de superfície dels leucòcits. En el citòmetre de flux les cèl·lules passen a través d'un feix de llum procedent d'un làser. El seu pas provoca la dispersió de la llum làser i a més les cèl·lules a les quals s'ha unit l'anticòs monoclonal donen fluorescència. Els fluorocroms al ser excitats en longituds d'ona similars emeten en diferents zones de l'espectre lluminós. El citòmetre de flux és l'equip que s'empra per detectar la fluorescència i recomptar el nombre de cèl·lules que s'han unit a l'anticòs monoclonal en la seva superfície. L'equip permet recollir informació sobre la mesura de la cèl·lula, la complexitat interna d'aquesta i a partir de la intensitat relativa de fluorescència de cada un dels anticossos monoclonals específics units als antígens de superfície, és possible identificar un determinat tipus cel·lular en la mostra de sang fresca. S'estableixen així percentatges que després es poden recalcular en base a percentatges multiplicant pels valors totals de l'hemograma.

En concret per als limfòcits d'aquest apartat, els fluorocroms marquen CD3/CD4/CD8 per limfòcits T, CD19 o CD20 per limfòcits B i CD16/56 per cèl·lules NK.

Valors de referència segons publicació de Shearer (53). **(Taula 3.3).**

Equip: Citòmetre de flux FACScalibur, N<sup>o</sup> sèrie E 4572, Becton Dickinson. Abril 2013 canvi a: Citòmetre de flux FACSCanto. Ref. 338962, Becton Dickinson.

#### **e. Estudi de subpoblacions de cèl·lules B i T**

Fonament: Es realitza la determinació en limfòcits de sang perifèrica amb el citòmetre de flux de manera equivalent a com s'ha descrit en l'apartat **d**; les diferències s'expliquen per l'ús d'altres anticossos que permeten subclassificar les subpoblacions.

Equip/reactius: Citòmetre de flux FACScalibur: IT-E-IMM-002. Reactiu: CD3 (PE-CY5)/ CD4 (PE)/ CD8 (FITC) triple fluorescència, Tampó de lisis, Becton Dickinson.

**Taula 3.1:** Valors de referència de l'HSJD de les immunoglobulines en sèrum

Edat	IgG (mg/L)	IgA (mg/L)	IgM (mg/L)	IgE (KUI/L)
<b>0 - 1 dia</b>	6.670 – 17.200	52 – 72	47 – 226	<17
<b>1 - 28 dies</b>	2.470 – 9.610	51 – 532	178 – 819	<17
<b>1 - 2 mesos</b>	1.970 – 6.280	65 – 476	149 – 991	<17
<b>2 – 3 mesos</b>	1.650 – 6.070	82 – 467	216 – 838	<17
<b>3 - 4 mesos</b>	1 870 – 5 820	80 – 718	245 – 953	<17
<b>4 - 5 mesos</b>	1.600 – 8.610	114 – 820	302 – 1.010	<17
<b>5 - 6 mesos</b>	2.070 – 7.410	114 – 671	322 – 962	<17
<b>6 - 9 mesos</b>	2.090 – 9.590	141 – 876	312 – 1.190	<17
<b>9 - 12 mesos</b>	2.930 – 11.300	169 – 1.020	379 – 1.410	<17
<b>1 - 2 anys</b>	4.350 – 11.200	169 – 1.180	446 – 1.590	<43
<b>2 - 3 anys</b>	4.540 – 12.000	244 – 1.510	436 – 1.890	<59
<b>3 - 5 anys</b>	4.780 – 13.100	271 – 1.470	398 – 1.860	<82
<b>5 – 6 anys</b>	6.630 – 13.700	346 – 1.910	446 – 1.960	<140
<b>6 - 8 anys</b>	6.630 – 13.700	346 – 1.910	446 – 1.960	<175
<b>8 - 10 anys</b>	6.360 – 16.800	457 – 2.230	541 – 2.300	<230
<b>10 - 18 anys</b>	6.700 – 14.300	690 – 2.940	522 – 3.350	<250
<b>Adults</b>	6.700 – 14.300	690 – 2.940	522 – 3.350	<100

**Taula 3.2:** Valors de referència de les subclasses d'IgG en sèrum (mg/L)

Edat	IgG <sub>1</sub>	IgG <sub>2</sub>	IgG <sub>3</sub>	IgG <sub>4</sub>
<b>0 - 1 mesos</b>	2.400-10.600	870-4.100	140-550	40-550
<b>1 - 4 mesos</b>	1.800-6.700	380-2.100	140-700	10-360
<b>4 - 6 mesos</b>	1.800-7.000	340-2.100	150-800	10-230
<b>6 - 12 mesos</b>	2.000-7.700	340-2.300	150-970	10-430
<b>12 - 18 mesos</b>	2.500-8.200	380-2.400	150-1.070	10-620
<b>18 - 24 mesos</b>	2.900-8 500	450-2.600	150-1.130	10-790
<b>2 - 3 anys</b>	3.200-9.000	520-2.800	140-1.200	10-1.060
<b>3 - 4 anys</b>	3.500-9.400	630-3.000	130-1.260	10-1.270
<b>4 - 6 anys</b>	3.700-10.000	720-3.400	130-1.330	10-1.580
<b>6 - 9 anys</b>	4.000-10.800	850-4.100	130-1.420	10-1.890
<b>9 - 12 anys</b>	4.000-11.500	980-4.800	150-1.490	30-2.100
<b>12 - 18 anys</b>	3.700-12.800	1.060-6.100	180-1.630	40-2.300
<b>Adults</b>	4.900-11.400	1.500-6.400	200-1.100	80-1.400



**Taula 3.3:** Valors de referència de les subpoblacions limfocitàries en sang perifèrica

Subpoblacions	2 a 6 anys		6 a 12 anys		12 a 18 anys	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<b>Leucòcits</b>	7,10 (5,20-11,0)		6,50 (4,40-9,50)		6,00 (4,40-8,10)	
<b>Limfòcits</b>	3,60 (2,30-5,40)		2,70 (1,90-3,70)		2,20 (1,40-3,30)	
<b>Cèl·lules B (19)</b>	0,75 (0,39-1,40)	21 (14-33)	0,48 (0,27-0,86)	18 (13-27)	0,30 (0,11-0,57)	14 (6-23)
<b>Cèl·lules T (3)</b>	2,39 (1,40-3,70)	66 (56-75)	1,82 (1,20-2,60)	69 (60-76)	1,48 (1,00-2,20)	73 (56-84)
<b>Cèl·lules T col·laboradores (4)</b>	1,38 (0,70-2,20)	38 (28-47)	0,98 (0,65-1,50)	37 (31-47)	0,84 (0,53-1,30)	41 (31-52)
<b>Cèl·lules T citotòxiques (8)</b>	0,84 (0,49-1,30)	23 (16-30)	0,68 (0,37-1,10)	25 (18-35)	0,53 (0,33-0,92)	26 (18-35)
<b>Cèl·lules NK (16/56)</b>	0,30 (0,13-0,72)	9 (4-17)	0,23 (0,10-0,48)	9 (4-17)	0,19 (0,07-0,48)	9 (3-22)

Recompte de subpoblacions expressat com nombre de cèl·lules  $\times 10^3 / \mu\text{l}$ .

Valors en nº i % expressats com a medianes i rang (entre el 10 i el 90 percentil).

**Taula 3.4:** Valors de referència de les subpoblacions limfocitàries B en sang perifèrica (54)

		2 a 5 anys	5 a 10 anys	10 a 16 anys	> de 16 anys
<b>Limfòcits B</b>	A	0,9	0,4	0,3	0,2
	B	0,4-1,7	0,3-0,6	0,2-0,6	0,1-0,6
	C	21,4	15,7	14,2	11,6
	D	14,1-28,5	9,7-23,7	9,4-22,8	7,2-22,5
<b>Limfòcits B naïf</b>	A	0,63	0,25	0,20	0,15
	B	0,28-1,33	0,13-0,46	0,12-0,43	0,06-0,47
	C	75,3	65,7	65,6	65,5
	D	54,0-88,4	47,3-77,0	51,3-82,5	48,4-79,7
<b>Limfòcit B memòria</b>	A	0,18	0,11	0,09	0,07
	B	0,05-0,39	0,06-0,23	0,05-0,20	0,03-0,17
	C	21,5	27,1	28,3	28,3
	D	7,8-37,1	18,6-46,7	13,3-47,9	17,5-46,5
<b>Limfòcit B memòria commutat</b>	A	0,08	0,07	0,05	0,04
	B	0,02-0,22	0,04-0,14	0,03-0,11	0,02-0,09
	C	10,9	14,4	16,2	16,1
	D	4,7-21,2	10,9-30,4	8,7-25,6	8,3-27,8
<b>Limfòcit B marginal</b>	A	0,09	0,05	0,04	0,03
	B	0,02-0,18	0,02-0,10	0,02-0,07	0,01-0,08
	C	10	11,0	12,2	11,1
	D	2,7-19,8	5,2-20,4	4,6-18,2	7,0-23,8
<b>Limfòcits B transicionals</b>	A	0,11	0,03	0,02	0,01
	B	0,02-0,20	0,01-0,04	0,01-0,06	0,00-0,03
	C	6,3	6,3	6,8	2,5
	D	3,1-12,3	4,6-8,3	1,4-13,0	0,9-5,7
<b>Plasmablastes</b>	A	0,01	0,01	0,00	0,00
	B	0,01-0,05	0,00-0,03	0,00-0,02	0,00-0,01
	C	1,5	1,7	1,5	1,1
	D	0,6-4,0	0,6-5,3	0,6-6,5	0,4-2,4
<b>Limfòcit B CD21<sup>low</sup> CD38<sup>low</sup></b>	A	0,03	0,02	0,02	0,01
	B	0,01-0,06	0,01-0,04	0,01-0,03	0,01-0,02
	C	2,7	4,6	5,8	4,4
	D	1,7-5,4	2,3-10,0	2,7-8,7	1,6-10,0

Nombre absolut de limfòcits B ( $10^9/L$ ) A: mediana i B: rang 5-95%.

Nombre relatiu de limfòcits B (%) C: mediana, D: rang 5-95%.

### **3.2.2.4 Serologia-PCR:**

**a. Estudi de resposta a anticossos contra malalties passades (varicel·la, VEB, CMV) i en front a vacunes (varicel·la, xarampió, tètanus, diftèria, pneumococ)**

#### **Anticossos IgG antivirals varicel·la-zòster (VVZ)**

Fonament: Tècnica d'ELFA (*Enzyme Linked Fluorescent Assay*) pel sistema-equip automatitzat VIDAS. El con d'un sol ús a on es fa la reacció serveix a la vegada de fase sòlida i de sistema de pipetejar. La resta dels reactius estan llestos per ser utilitzats en les diferents localitzacions del cartutx. Totes les etapes de la reacció es realitzen de manera automàtica per l'aparell analític (Mini VIDAS). Després de la dilució de la mostra es fa un rentat preliminar i a continuació els anticossos anti-VVZ s'uneixen als antígens fixats en el con. Els components no fixats s'eliminen amb els rentats. Les IgG humanes conjugades amb la fosfatasa alcalina es fixen amb les IgG específiques de VVZ. L'excés de conjugat s'elimina amb un nou rentat. En l'etapa de revelat: el substrat és aspirat i a continuació expulsat del con, l'enzim del conjugat catalitza la reacció d'hidròlisi d'aquest substrat en un producte que emet fluorescència, que es mesura a 450 nm. La intensitat d'aquesta fluorescència és proporcional a la quantitat d'anticòs anti-VVZ de tipus IgG presents a la mostra. Els resultats s'analitzen automàticament pel VIDAS i s'interpreten comparant-los amb la corba de calibratge. Una vegada finalitzada la prova, sistema informàtic analitza els resultats automàticament. El resultat de la prova és un índex (i) entre el valor de fluorescència relativa (RFV) de la mostra i el RFV del calibrador. Resultat: positiu si  $i > 0,90$ , negatiu si  $i < 0,60$  i dubtós si  $i > 0,60$  però  $< 0,90$ .

Equip/productes: MiniVIDAS®, Vidas Varicella-Zoster IgG (Ref. 30 217), BioMérieux.

#### **Anticossos IgG antitètanics, anti-*S.pneumoniae***

Fonament: Tècnica d'ELISA que detecta els anticossos presents en el sèrum que formaran un complex immune amb l'antigen fixat a la placa de microtitulació. D'acord amb la normativa de l'OMS les concentracions d'anticossos contra la toxina tetànica s'expressen en UI/mL. Si el nivell d'anticossos és  $> 0,1$  UI/mL es considera que hi ha protecció immunitària. Per a *S.pneumoniae* s'expressa en U/L i es considera protector si  $> 250$  U/L.

Equip/productes: Autoanalitzador DS2, ALERE. Elisa Tétano Kit de ensayo IgG, Virotech (Ref. EC124.00), ELIZEN Pneumococcus IgG, ZenTech (Ref.: E-DG-96).

### **Anticossos IgG contra el CMV**

Fonament: Immunoanàlisi per quimioluminescència de micropartícules per a la determinació qualitativa i semiquantitativa d'anticossos IgG contra el CMV en sèrum i plasma humans. Es realitza en 2 passos. En el primer pas es combina la mostra, el diluent de l'assaig i les micropartícules paramagnètiques recobertes amb el lisat del CMV (soca AD169). L'anticòs IgG anti-CMV present en la mostra s'uneix a les micropartícules recobertes del lisat. Després del rentat, s'afegeix el conjugat d'anticossos (de ratolí) anti-IgG humana marcat amb acridina per crear la mescla de reacció. Les solucions preactivadora i activadora s'afegeixen a la mescla de reacció després d'un altre cicle de rentat i la reacció de quimioluminescència resultant es mesura en unitats relatives de llum (URL). Existeix una relació directament proporcional entre la quantitat d'anticossos IgG anti-CMV present en la mostra i les URL detectades pel sistema òptic ARCHITECT *i*. Les mostres amb valors de concentració < 0,6 AU/mL es consideren no reactives, i  $\geq 6,0$  AU/mL es consideren reactives.

Equip/productes: ARCHITECT *i* System, 6C15 ARCHITECT CMV IgG Reagent Kit.

### **Anticossos IgG front a VEB i xarampió**

Fonament: Immunoassaig per quimioluminescència indirecta per determinar anticossos IgG específics front a l'antigen de la càpsida viral del VEB o del xarampió, en sèrum o plasma. Mètode basat en la reacció dels anticossos de la mostra amb l'antigen unit a la superfície de poliestirens. Les immunoglobulines no unides per la reacció amb l'antigen són eliminades en el procés de rentat. En un pas posterior la globulina antihumana reacciona amb el complex entre antigen i anticòs, i la no unida és eliminada pels rentats; la unida reacciona amb el substrat quimioluminescent que generarà una luminescència de brillo perllongat que pot llegir-se amb per luminometria. Resultat: índex < 0,9 negatiu, 0,9-1,1 dubtós i > 1,1 positiu.

Equip/productes: VIRCLIA VCA Epstein-Barr IgG Monodose, Vircell S.L., VIRCLIA Measles IgG Monodose, Vircell S.L.

### **Anticossos IgG antidiftèrics**

Fonament: Tècnica d'ELISA per a la determinació quantitativa dels anticossos IgG antitoxina diftèrica. L'anticòs a detectar forma un complex amb l'antigen unit a la placa de microtitulació. Les immunoglobulines no unides s'eliminen per rentat. Després d'afegir la solució de substrat, es produeix un colorant blau per la unió a l'enzim (peroxidasa). El color canvia a groc quan s'afegeix la solució de parada. Segons els estàndards de l'OMS les concentracions d'antitoxina diftèrica s'expressen en Unitats Internacionals per mil·lilitre. Es consideren nivells protectors > 0,1 IU/mL.

Equip/productes: Diphtheria ELISA IgG Testkit (EC129.00), Sekisui Virotech.

### **b. Estudi per PCR de virus limfotrófics i VIH**

#### **PCR en temps real per a VEB i CMV**

Fonament: Detecció d'una seqüència genètica d'una regió altament conservada del DNA del VEB/CMV mitjançant la PCR amb tecnologia Taq-Man®. L'assaig implica una reacció d'amplificació en temps real en un termociclador programable amb un sistema òptic de detecció de la fluorescència. A cada tub es dona una reacció d'amplificació específica per a una regió del gen en estudi (VEB/CMV) així com per al control intern. La sonda específica per al VEB marcada amb el fluoròfor FAM s'activa quan s'hibrida amb el producte específic de la reacció d'amplificació del VEB/CMV. L'altra sonda específica per al control intern marcada amb fluoròfor VIC s'activa quan s'hibrida amb el producte de la reacció d'amplificació per al control intern. L'emissió de fluorescència augmenta a mesura que els productes específics de la reacció d'amplificació augmenten: aquest augment és detectat i registrat per l'equip. Una mostra es considera positiva quan es detecta una gràfica d'amplificació per sobre de la línia de tall, mitjançant una fórmula s'expressa en còpies per microlitre.

Equip/productes: Reactius sistema *EasyMAG*® i *MagNA Pure Roche*, reactius per a l'amplificació: EBV Q-PCR Alert Kit, EBV Q-PCR Standards, EBV Positive Control i Q-PCR Real Time Complete Kit, reactiu per a l'extracció utilitzant *Chelex*®.

### **PCR per a herpesvirus humà 6 (HVH6), herpesvirus humà 7 (HVH7) i herpesvirus humà 8 (HVH8)**

Fonament: Es realitza en mostres de plasma i sang completa per poder detectar virus lliure en plasma i integrat a cèl·lules sanguínies. Per a la preparació del plasma es centrifuga la mostra de sang durant 20 minuts a 3.500 G, el sobrenedant (plasma) es separa amb pipeta i es guarda en tub lliure de DNases i RNases. Per a la mostra de sang completa a partir de 0,4 mL de sang total es fa l'extracció de DNA amb el sistema *MagNA Pure Compact System* de Roche Diagnostics d'acord al protocol normalitzat de treball del laboratori. Així, s'envien 2 mostres per pacient per realitzar l'estudi per PCR en temps real (55) al Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda.

### **Càrrega viral VIH-1 per PCR en temps real**

Fonament: La quantificació del RNA de les partícules víriques del VIH-1 Subtipus A-J del grup M en plasma, es basa en cinc processos fonamentals: 1. Preparació de la mostra, 2. Transcripció reversa del RNA diana per a generar un DNA complementari, 3. Amplificació per PCR utilitzant iniciadors específics, 4. Hibridació i 5. Detecció dels productes amplificats. A diferència de la PCR tradicional, les fases 2 a 5 es realitzen en temps real en un únic procés. El programa AMPLILINK interpreta les corbes de fluorescència generant els resultats en unitats internacionals (UI) per mil·lilitre o en logaritme d'unitats internacionals per mil·lilitre. La concentració de RNA víric del VIH en una mostra o control es calcula a partir de la corba de calibratge emmagatzemada.

Equip/productes: COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 Test 48 Tests (P/N: 05212294190), COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® Wash Reagent 5.1 Litros (P/N: 03587797190).

### 3.2.2.5 Assaig proliferació limfocitària a mitògens inespecífics

Fonament: L'assaig d'estimulació activat per mitògens (PHA o *phytohemagglutinin*, PWM o *Pokeweed Mitogen*, ConA o *concanavalina-A*) ajuda a la determinació de la competència immunitària de les cèl·lules T i/o B. El mitogen és una substància química que indueix la divisió cel·lular. És capaç d'interaccionar amb múltiples receptors i habitualment s'utilitza per induir una estimulació de la població limfocitària i poder avaluar la funcionalitat d'aquesta. La PHA o ConA indueixen l'estimulació preferent dels limfòcits T, mentre que el PWM indueix la proliferació T de manera dependent característicament de l'activació de les cèl·lules B.

El CFSE (*CarboxyFluorescein diacetate Succinimidyl Ester*) és una molècula incolora i no fluorescent que difon de forma passiva en les cèl·lules, els grups acetats de la qual són trencats per acció d'esterases intracel·lulars donant lloc a una molècula altament fluorescent (*Carboxyfluorescein Succinimidyl Ester*). El grup succinimidil èster reacciona amb amines intracel·lulars formant conjugats fluorescents que queden ben retinguts en l'interior cel·lular i que poden ser fixats amb fixadors de tipus aldehyd. Els adductes proteïna-fluorocrom que s'han format en les cèl·lules marcades són retinguts per les cèl·lules durant el seu desenvolupament i la mitosi, de manera que poden ser utilitzats per fer un seguiment de la divisió cel·lular *in vivo*. El marcatge és heretat per les cèl·lules filles després de cada divisió cel·lular, mentre que no es transfereix entre cèl·lules adjacents en una població. Així doncs, en l'histograma intensitat CFSE (FL1)/recompte de cèl·lules amb cada cicle de divisió cel·lular observarem un pic de menor intensitat del CFSE, ja que el fluorocrom unit a les proteïnes es va repartint en la descendència. Aproximadament els pics d'excitació i emissió d'aquest producte després de la hidròlisi són 492 nm i 517 nm, respectivament. Les cèl·lules marcades amb CFSE poden ser analitzades per citometria de flux en un citòmetre amb una font d'excitació de 488 nm i també poden ser visualitzades per microscòpia de fluorescència utilitzant un filtre estàndard de fluoresceïna.

Equip/reactius: Placa de cultiu de 96 pous de fons pla, Medi de cultiu X-VIVO 15 2% de sèrum AB, Cèl·lules (mostra problema/control), CFSE (*Carboxyfluorescein succinimidyl ester*), Estimulants cel·lulars [PHA; IL-2; Pokeweed Mitogen (PWM) ; PMA; Ionomicina;

CD3; CD28, ...; Superantigen de *Staphylococcus aureus* (SSA i SSB)], Anticossos monoclonals (CD45-APC;CD3-PerCP; CD4-PE; CD19-APC-γ7; CD25-PE-Cy5) per definir subpoblacions marcats en fluorocroms (fora del canal FL-1 reservat a CFSE); solucions de rentat i fixació per a la IFD, Campana de flux Laminar, Estufa 37°C 5%CO<sub>2</sub>, Kit CellTrace™ CFSE Cell Proliferation (Cat.#. C34554, Invitrogen), Sang Fresca o PBMC obtinguts de sang fresca (IT-I-IMM-137), Lectura al citòmetre FACSCanto.

### **3.2.2.6 Quantificació nivells sèrics de lectina d'unió a mannososa (MBL) i genotipat**

Fonament: Quantificació: Assaig tipus ELISA en el que s'utilitzen micropouets recoberts de mannan de *S. cerevisiae* o anticòs monoclonal anti-MBL. Aquests pouets s'incuben amb mostres de sèrum/plasma de pacients o calibradors diluïts en tampó amb calci. La MBL sèrica unida es detecta amb un anticòs monoclonal biotinat contra MBL. Després d'una incubació s'elimina l'excés d'anticòs no unit i es revela la reacció amb estreptavidina unida a peroxidasa (HRP) seguida de l'adició d'un substrat cromogènic (TMB). Després es para la reacció i es mesura l'absorbància a 450 nm. Els resultats es comparen amb els obtinguts per a les diferents concentracions de la corba de calibratge i es calculen automàticament. Genotipat: Amplificació per PCR de la regió genòmica corresponent al promotor i l'exó 1 del gen *MBL2* i posterior seqüenciació del producte amplificat (PCR-SBT).

Equip: Espectrofotòmetre de plaques de microtitulació 1-7 (IT-E-IMM-577), MBL ELISA kit (AntibodyShop, Gentofte, Denmark, kit 029 AntibodyShop), Seqüenciador capil·lar (Genetic Analyzer 3100, Applied Biosystems (IT-E-IMM-037), Encebador en sentit 5'-GGGGAATTCCTGCCAGAAAGT-3', Encebador antisentit 5'-CATATCCCCAGGCAGTTTCCT-3', Columnes d'extracció de DNA (QIAamp DNA blood mini kit, QIAGEN), Taq DNA Polimerasa (GoTaq DNA Polymerase, Promega), Exonucleasa i Fosfatasa Alcalina (ExoSAP-IT, USB Corporation, 78201), Seqüenciació cíclica amb terminadors marcats (BigDye® Terminator Cycle Sequencing Kit, Applied Biosystems), 1kb Plus DNA Ladder (Invitrogen 10-787-026), Sephadex G-50 (GE Healthcare 17-0573-02).



### 3.2.2.7 Resposta vacunal per serotips de la vacuna antipneumocòccica 23-valent

Fonament: Els anticossos contra els polisacàrids de pneumococ es van mesurar en una plataforma Luminex (Luminex Corporation, Austin, TX), usant un immunoassaig múltiple quantitatiu (MIA): el panell xMAP d'immunitat pneumocòccica. Aquest assaig [desenvolupat pel Dr. WA Dik, a Erasmus MC, Rotterdam] identifica anticossos IgG específics de serotip polisacàrid capsular dels següents 16 serotips: 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9V, 14, 15B, 18C, 19A, 19F, 20, 23F i 33F (nomenclatura danesa). Les mostres es van diluir per un factor de 1: 100 amb solució diluent, incloses en el kit xMAP, compost de solució salina tamponada amb fosfat (PBS), pH 7,3, amb polisacàrid de la paret cel·lular pneumocòccica (C-PS) i polisacàrid 22 (PS-22) afegit en concentracions de treball per inhibir la unió no específica d'antipolisacàrids de la paret cel·lular I i II. Els sèrums diluïts es van incubar amb una barreja de 16 tipus de microesferes, cadascuna recoberta amb l'antigen que representa 1 dels 16 serotips del pneumococ. Els anticossos no units es van rentar, i cada mostra es va tractar amb anticòs IgG de cabra conjugat amb ficoeritrina antihumana. El conjugat no unit es va rentar, i les suspensions de perles es van analitzar en l'analitzador Luminex (ES 2.3). Set dilucions estàndard, inclosos en el kit xMAP, calibrades per al sèrum de referència FDA 89-SF, es van utilitzar per generar una corba estàndard per a la quantificació de concentracions d'anticòs. Es van preparar tres controls per duplicat amb les mostres de cada assaig. Resposta valorada segons la publicació d'Orange (56). **(Taula 3.5).**

Equip: plataforma Luminex (Luminex Corporation, Austin, TX), kit xMAP, l'analitzador Luminex (ES 2.3).

**Taula 3.5:** Fenotips de resposta deficient a la vacuna antipneumocòccica 23-valent

Fenotip*	> de 6 anys	< de 6 anys	Notes
<b>Greu</b>	≤ 2 títols protectors (≥ 1,3 µg/mL)	≤ 2 títols protectors (≥ 1,3 µg/mL)	Títols protectors baixos
<b>Moderat</b>	< 70% dels serotips són protectors	< 50% dels serotips són protectors	Títols protectors a ≥ de 3 serotips
<b>Lleu</b>	Manca de generació de títols protectors a múltiples serotips o manca d'increment de 2 vegades en els 70% dels serotips	Manca de generació de títols protectors a múltiples serotips o manca d'increment de 2 vegades en els 50% dels serotips	Increment de 2 vegades considerant nivells prevacunals menors de 4,4-10,3 µg/mL
<b>De memòria</b>	Pèrdua de resposta en 6 mesos	Pèrdua de resposta en 6 mesos	Resposta inicial adequada de ≥50% dels serotips en menors de 6 anys i ≥ 70% en majors de 6 anys

\*Tots els fenotips assumeixen història d'infeccions.

### 3.2.2.8 Estudi mutacions genètiques

Processament de les mostres i enviament al **Servei de Genòmica de la Universitat Pompeu Fabra**.

Anàlisis realitzades:

- Genotipat d'alta densitat per a la detecció de variants genètiques estructurals i regions d'alta homozigositat (CytoScan HD).
- Seqüenciació de l'exoma complet (captura amb Exoma Capture Agilent Sure Select XT i seqüenciació en HiSeq 2000 (Illumina)).

S'analitzen 83 gens candidats per a la IDCV: *ACP5*, *AICDA*, *AIRE*, *ANP32B*, *BCL2*, *BLNK*, *BTB*, *BTLA*, *CARD11*, *CASP8*, *CD19*, *CD20*, *CD22*, *CD24*, *CD27*, *CD274*, *CD276*, *CD37*, *CD38*, *CD40*, *CD40LG*, *CD5*, *CD72*, *CD74*, *CD79A*, *CD79B*, *CD81*, *CD84*, *CD93*, *CECR1*, *CLEC16A*, *CR2*, *CTLA4*, *DOCK8*, *FCER2*, *FOXP3*, *ICOS*, *ICOSLG*, *IGHM*, *IGKC*,

*IGLL1, IKZK1, IL10, IL10RA, IL10 RB, IL12, IL21, IL21R, IL21RA, IL3, IL4, IL4R, INFG, ITCH, LRBA, MBL2, MS4A1, NFKB1, NFKB2, NOD2, PDCD1, PDCD1LG2, PIK3CD, PIK3R1, PLCG2, PMS2, PRKCD, RAG2, SERPINA1. SH2D1A, STAT1, STAT3, TNFRSF13B, TNFRSF13C, TNFRSF17, TNFSF10, TNFSF12, TNFSF13, TNFSF13B, UNC93B1, UNG, VDR, XIAP.*

c. Validació pel mètode Sanger de les variants genètiques candidates.

### 3.2.3 Radiologia

#### Ecografia abdominal

Es realitza amb l'Ecògraf Phillips IU 22 (Phillips Healthcare, Best, The Netherlands), es mesura l'eix bipolar de la melsa. S'utilitza com a criteri de normalitat la taula per edats de Rosenberg 1991 (57).

**Taula 3.6:** Mesura normal de la melsa segons l'edat

Edat	Eix bipolar (en cm)*
0-3 mesos	≤ 6
3-6 mesos	≤ 6,5
6-12 mesos	≤ 7
1-2 anys	≤ 8
2-4 anys	≤ 9
4-6 anys	≤ 9,5
6-8 anys	≤ 10
8-10 anys	≤ 11
10-12 anys	≤ 11,5
12-15 anys	≤ 12
15-20 anys (dones)	≤ 12
15-20 anys (homes)	≤ 13

\*Mesures obtingudes en un pla coronal longitudinal.

### Radiografia de tòrax convencional/Tomografia computada toràcica

TC o TACAR toràcica: iCT Phillips Brilliance 256 (Phillips Healthcare, Best, The Netherlands).

### Ressonància magnètica

General Electric Signa 1.5 teslas.

### 3.2.4 Funció pulmonar

Es realitza espirometria forçada als pacients. Es segueixen les recomanacions sobre tècnica i interpretació de l'espirometria del protocol de funció respiratòria en el pacient col·laborador de la *Sociedad Española de Neumología Pediàtrica* (58).

L'espiròmetre utilitzat: MasterScreen/SentrySuite® de Jaeger®.

**Taula 3.7:** Patrons bàsics en l'espirometria

	Obstructiu	Restrictiu	Mixt
<b>CVF</b>	Normal o lleument disminuïda	Molt disminuïda (< 70%)	Disminuïda (< 70%)
<b>VEF1</b>	Disminuït (< 80%)	Disminuït o normal	Disminuït (< 80%)
<b>VEF1/CVF</b>	Disminuït (< 70-80%)	Normal o augmentat	
<b>FEF<sub>25-75%</sub></b>	Molt disminuït (< 65%)	Disminuït o normal	

Valors percentuals respecte al valor teòric. CVF: capacitat vital forçada, VEF1: volum expiratori forçat en el 1r segon, FEF<sub>25-75%</sub>: flux expiratori forçat entre el 25 i el 75% de la CVF.

### **3.2.5 Immunització**

A tots els pacients, excepte si hi ha contraindicació, s'administrava la vacuna antipneumocòccica 23-valent per via intramuscular.

És una vacuna polivalent composta per polisacàrids capsulars de 23 serotips diferents del pneumococ, que condicionen una resposta T-independent. Pneumovax® 23, Laboratori MSD.

Cada dosi de 0,5 mL de la vacuna conté: 25 µg de cada tipus de polisacàrid dissolt en solució salina isotònica que conté fenol 0,25% com a conservant. Conté els serotips: 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F y 33F.

### **3.2.6 Altres**

Els pacients afectes d'IDCV presenten malalties d'altres àmbits, bàsicament: malalties autoimmunitàries, neoplàsies i/o malalties al·lèrgiques. Els diagnòstic d'aquestes patologies s'ha realitzat en els Serveis corresponents (Hematologia, Endocrinologia, Dermatologia, Oncologia, Gastroenterologia, Immunoal·lèrgia, Neurologia) seguint els criteris diagnòstics establerts per a aquestes malalties i el seguiment i tractament habituals.

A continuació es referencien els criteris diagnòstics utilitzats en les malalties diagnosticades amb major freqüència:

#### **3.2.6.1 Malaltia celíaca**

Els pacients han estat avaluats seguint els criteris diagnòstics de l'*European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition* (ESPGAN) revisats el 1990 (59) i posteriorment amb la nova guia de diagnòstic per a la celiaquia del 2012 (60).

Classificació histològica inicial de Marsh el 1992 que ha sigut modificada en diverses ocasions fins la darrera el 2006 (61).

**Taula 3.8:** Classificació de Marsh-Oberhuber modificada

	Marsh 0	Marsh 1	Marsh 2	Marsh 3a	3b	3c	Marsh 4
LIE*	<30/100	>30/100	>30/100	>30/100	>30/100	>30/100	<30/100
Hiperplàsia de criptes	-	-	+	+	+	+	-
Atròfia vellositats	- Preinfiltratiu	- Infiltratiu	- Infiltratiu-hiperplàsic	Lleu	Moderada	Total	Total Atròfia-hipoplàsia
				Lesió destructiva plana			

LIE: limfòcits intraepitelials, \*: nombre de LIE per 100 enteròcits.

### 3.2.6.2 Diabetis mellitus

Es segueixen les guies de l'*International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes* (ISPAD) (62).

### 3.2.6.3 Tiroïditis

Segons els Protocols d'Endocrinologia de la *Sociedad Española de Endocrinología Pediátrica* (SEEP) publicats a la pàgina web de l'*Asociación Española de Pediatría* (AEP) (63).

### 3.2.6.4 Deficiència d'hormona del creixement

Es segueixen les directrius del document: Criteris d'indicació i seguiment del tractament amb hormona del creixement i substàncies relacionades, del Departament de Salut de la Generalitat de Catalunya, darrera actualització de l'any 2010 (64).

### 3.2.6.5 AHAI, Trombocitopènia autoimmunitària i Síndrome d'Evans

Per a les citopènies autoimmunitàries de la infància els criteris diagnòstics s'establen fa anys, resumits en una revisió del 2013 (65).

#### **3.2.6.6 Artritis idiopàtica juvenil (AIJ)**

Es segueixen les recomanacions de la *International League of Associations for Rheumatology* (ILAR), revisades a Edmonton 2001 (66).

#### **3.2.6.7 Limfoma**

Es realitza diagnòstic mitjançant anatomia patològica. S'utilitza per a la seva classificació la de l'Organització Mundial de la Salut (OMS) que divideix els limfoma no hodgkinians (NHL) segons la seva naturalesa i grau de diferenciació (67). Per establir l'extensió de la malaltia s'utilitza el sistema d'estadi de Saint Jude i el d'Ann Arbor (68).

#### **3.2.6.8 Asma**

Definició segons el "Consenso sobre tratamiento del asma en pediatría": Sibilàncies recurrents i/o tos persistent en una situació en la que l'asma és probable i s'han descartat altres malalties menys freqüents (69).

#### **3.2.6.9 Infeccions significatives**

Es considera que un pacient té infeccions significatives quan compleix les característiques de la taula proposada per Sorensen (70).

**Taula 3.9:** Infeccions que mereixen una avaluació de la immunitat humoral

Indicacions	Allergy/Immunology Clinics LSUHSC, New Orleans		Jeffrey Model Foundation
	2-5 anys	> 5 anys	Qualsevol edat
	Nombre d'episodis		
<b>Infeccions tracte respiratori superior:</b>			
Tractades amb antibiòtic (per any)	≥ 4	≥ 2	
Otitis tractades amb antibiòtic (per any)	≥ 4	≥ 2	≥ 8
Episodis de sinusitis (per any)	≥ 2	≥ 1	≥ 2
Sinusitis crònica (> d'1 mes)	≥ 1	≥ 1	
<b>Infeccions greus i invasives:</b>			
Pneumònies (per anys)	≥ 2	≥ 2	≥ 2
Pneumònies (a la vida)	≥ 3	≥ 2	
Infeccions invasives no complicades (sèpsia, meningitis, osteomielitis)	≥ 2	≥ 2	≥ 2
Infeccions invasives greus	≥ 2	≥ 1	
<b>Infeccions gastrointestinals:</b>			
Diarrea crònica per rotavirus o altres	≥ 1	≥ 1	
Infecció crònica o recurrents per <i>Giardia</i> <i>Lamblia</i>	≥ 1	≥ 1	
<b>Ús d'antibiòtic:</b>			
Ús crònic sense efecte (> de 2 mesos)			≥ 1
Necessitat d'ús iv per resoldre infecció			≥ 1
Necessitat d'ús preventiu *	≥ 1	≥ 1	
Ús per infeccions respiratòries	≥ 4	≥ 2	
Al·lèrgia a antibiòtics	≥ 1	≥ 1	
<b>Fracàs clínic de vacunes: **</b>			
Infeccions per Hib o pneumococ	≥ 1	≥ 1	

\* Exclosos els pacients que necessiten ús d'antibiòtic crònic per asplènia anatòmica o funcional, infeccions del tracte urinari o altres factors de risc coneguts per infeccions.

\*\* Fracàs clínic de vacunes es defineix com una infecció greu o invasiva per un bacteri inclòs en la vacuna contra l'*Haemophilus influenzae* tipus B (Hib) o contra el pneumococ.



### 3.2.6.10 Corbes de creixement

Corbes utilitzades a Hospital Sant Joan de Déu: *MEDitions, Etude séquentielle*, C.E.C.D.E. - 1953-1975, Pr Michel Sempé.

## 3.3 Estudi estadístic

Totes les anàlisis es realitzen amb el programari estadístic IBM® *SPSS Statistics (Statistical Package for the Social Sciences Statistics)*, Versió 24. Es fixa el nivell de significació estadística ( $p$ ) en 0,05 (5%).

Les variables qualitatives es presenten en nombre i percentatges i es comparen mitjançant la prova khi quadrat de Pearson. S'analitza la correlació entre diverses variables quantitatives mitjançant el coeficient de correlació de Spearman.

Per a l'anàlisi de les variables quantitatives contínues de determinació d'immunoglobulines i subclasses d'IgG s'ha realitzat l'estandardització (tipificació/normalització) de dades. És a dir, a partir dels valors  $x_i$  d'una distribució estadística  $X$  i de la seva mitjana i la desviació estàndard, s'han definit els valors  $z_i$  d'una altra distribució  $Z$ , anomenada variable estandarditzada (tipificada o normalitzada) de  $X$  de la manera següent:

$$z_i = \frac{x_i - \bar{x}}{\sigma}$$

S'analitzen les característiques de la distribució de las variables quantitatives mitjançant la prova de Kolmogorov-Smirnov. Les principals variables quantitatives analitzades mostren una distribució asimètrica i no compleixen criteris de normalitat, per aquest motiu i que el nombre de pacients és de 25 s'han realitzat els anàlisis amb els test no paramètrics. Les variables quantitatives es presenten com a mediana (rang) i es comparen utilitzant el test de U de Mann-Whitney (per distribució asimètrica).

### 3.4 Variables

Descripció de les variables de l'estudi.

#### **Variables qualitatives:**

- Sexe: masculí, femení.
- Raça: caucàsica (de pobles d'Europa), nord-africà (tot i que els nord-africans es consideren a efectes de raça caucàsics hem establert aquesta denominació per distingir els pacients magrebins de la resta que eren d'origen europeu).
- Consanguinitat: sí, no.
- Antecedents familiars de: malalties autoimmunitàries, immunodeficiències primàries, malignitat i malalties al·lèrgiques: sí, no (per a cada una).
- GGEV/SC (pacients en tractament substitutiu amb gammaglobulines iv o sc): sí, no.
- Resposta vacunal al diagnòstic: negativa (pacients que no assoleixen valors protectors després de l'administració de vacunes o els perden abans de l'any), positiva o protectora (la resta). En funció del moment on s'ha diagnosticat el pacient s'han utilitzat diferents vacunes en funció de la possibilitat de comprovar resposta per part del laboratori, així en els pacients diagnosticats fa més anys es realitzava la comprovació amb vacunes amb resposta T-depenent (antitetànica, antidiptèrica, antixarampionosa i/o antirubeòlica) i en els darrers anys es comprova la resposta tant a vacunes T-dependents (proteiques i conjugades) bàsicament amb la vacuna antitetànica i antidiptèrica com a vacunes de resposta T-independents (de polisacàrids) amb la vacuna antipneumocòccica 23-valent.
- Isoaglutinines: positives (títols  $\geq 1/16$  per anti-A i  $\geq 1/8$  per anti-B es consideren normals), negatives (títols  $< 1/16$  per anti-A i  $< 1/8$  per anti-B), no avaluables (en els pacients amb grup sanguini AB) (71).
- Defecte d'Ig: IgG + IgA (pacients que presenten disminució dels nivells d'IgG i IgA per sota de 2 DE per a la seva edat), IgG + IgM (pacients que presenten disminució dels

nivells d'IgG i IgM per sota de 2 DE per a la seva edat), IgG + IgA + IgM (pacients que presenten disminució dels nivells d'IgG, IgA i IgM per sota de 2 DE per a la seva edat).

- Fenotips clínics 2008 (7): Autoimmunitat (incloent malalties autoimmunitàries específiques d'òrgan i citopènies), Infiltració limfocítica policlonal (incloent: granuloma inexplicat, hepatomegàlia inexplicable, limfadenopatia persistent i LIP), Malignitat limfoide (casos provats i tractats), Enteropatia inexplicable (comprovat per biòpsia i gluten-insensible), i No complicacions relacionades amb la malaltia (només infeccions).
- Fenotips clínics 2012 (40): No complicacions relacionades amb la malaltia, Citopènies (PTI, anèmia hemolítica autoimmune (AHAI) i/o neutropènia), Limfoprolifерació policlonal (granuloma, LIP, limfadenopatia persistent inexplicada) i Enteropatia persistent inexplicada.
- Pertànyer a 1 fenotip 2008: sí, no.
- Pertànyer a 2 fenotips 2008: sí, no.
- Pertànyer a 1 fenotip 2012: sí, no.
- Pertànyer a 2 fenotips 2012: sí, no.
- Infeccions significatives: s'ha considerat que un pacient té infeccions significatives quan complia les característiques de la taula proposada per Sorensen (**Taula 3.9**).
- Malaltia autoimmunitària: qualsevol malaltia autoimmunitària, citopènia o específica d'òrgan.
- Citopènia autoimmunitària: AHAi, PTI, neutropènia, Síndrome d'Evans.
- Malaltia autoimmunitària organoespecífica: inclosa la celiaquia.
- 1 malaltia autoimmunitària: pacients afectes d'una única malaltia autoimmunitària (citopènia autoimmunitària o organoespecífica).
- $\geq 2$  malalties autoimmunitàries: pacients afectes de 2 o més malalties autoimmunitàries (citopènia autoimmunitària i/o organoespecífica).

- Malaltia OE + CIT: pacients que presenten almenys una malaltia autoimmunitària específica d'òrgan i una citopènia.
- Malaltia pulmonar crònica: pacients afectes d'asma no al·lèrgica, bronquièctasi i/o LIP.
- Asma: pacients amb criteris d'asma (apartat **3.2.6.8**) on s'ha descartat etiologia al·lèrgica.
- Bronquièctasi: confirmació per TC toràcica.
- LIP: pacients amb diagnòstic de pneumònia intersticial limfocítica (per TC toràcica i biòpsia).
- Infeccions pulmonars significatives: pacients amb pneumònia i/o infecció pulmonar que ha requerit tractament antibiòtic per resoldre's.
- Hiperplàsia limfoide: pacients amb esplenomegàlia i/o adenopaties persistents.
- Esplenomegàlia: confirmació per mesura ecogràfica segons valors de normalitat a **Taula 3.6**.
- Malaltia al·lèrgica: dermatitis atòpica (per diagnòstic mèdic), al·lèrgia alimentària, al·lèrgia respiratòria (rinitis i/o asma), confirmació diagnòstica per correspondència de la clínica amb proves cutànies i/o IgE específiques.
- Malignitat/Neoplàsia: pacient efecte de càncer de qualsevol tipus.
- Retard del creixement: pacients amb talla baixa (per sota de 2 DE respecte edat i sexe) i/o pes baix (per sota del 10% respecte edat i sexe) segons gràfiques de creixement de l'Hospital de Sant Joan de Déu (apartat **3.2.6.10**).
- Limfòcits totals, limfòcits B, limfòcits T, limfòcits T4, limfòcits T8, cèl·lules NK i subpoblacions de limfòcits B (naïf, memòria, memòria commutats, marginals, transicionals, plasmablastes i CD21<sup>low</sup> CD38<sup>low</sup>) es mostren en valors absoluts i percentatges, però per a l'anàlisi estadístic són classificats com normals o alterats (elevats o disminuïts segons la variable) segons els valors de referència de les taules: **Taula 3.3, Taula 3.4**.

- Subpoblacions de limfòcits T (LT HLA-DR+, LT CD69+, LT CD25+, LT CD25++, LT CD62Lneg) es mostren en valors absoluts i percentatges, però per a l'anàlisi estadístic són classificats com activats o no (activació crònica > 5 %, activació aguda > 5 %, activació intermèdia > 10% i T reguladores > 2%, respectivament).
- Resposta proliferativa: normal, alterada.
- Patró pulmonar: alterat o no segons el resultat de l'espirometria.
- Rx tòrax alterada: sí, no.
- TC toràcica alterada per IDCV: sí, no; no es consideren els canvis infecciosos i postinfecciosos com a TC alterada.
- Determinació de PCR a HHV6, 7 i 8 en plasma i DNA: positiva o negativa.
- Determinació de PCR a: VEB, CMV, VIH i serologies IgG a CMV, VEB, i serologia IgM a CMV, VEB. Positives o negatives.
- MBL: variable segons genotip: A/A, A/0 o 0/0, i segons productori: alt, baix o deficient.
- Resposta a vacuna antipneumocòccica 23-valent: combinada i per serotips valorada com resposta positiva o negativa segons referències dels apartats **3.2.2.4** i **3.2.2.7**.
- Mal pronòstic 1: pacients que presenten malaltia pulmonar crònica, neoplàsia i/o limfoproliferació policlonal.
- Mal pronòstic 2: pacients que presenten qualsevol complicació excepte malaltia autoimmunitària organoespecífica.
- Classificació EUROclass (39): SmB-, SmB+, SmB+ CD21<sup>norm</sup>, SmB+ CD21<sup>lo</sup>, SmB- Tr<sup>norm</sup> CD21<sup>norm</sup>, SmB- Tr<sup>norm</sup> CD21<sup>lo</sup>, SmB- Tr<sup>hi</sup> CD21<sup>norm</sup>.
- Classificació pediàtrica Yong (32): grup I, grup II.
- Classificació pediàtrica de Piatosa (50): grups I a VI.
- Tractament antibiòtic endovenós: pacients que han necessitat tractament antibiòtic iv per resoldre les infeccions.

- Inici <5: pacients que presenten el 1r símptoma abans dels 5 anys
- Inici <10: pacients que presenten el 1r símptoma abans dels 10 anys.

### **Variables quantitatives**

- Edat del 1r símptoma: edat en anys on inicien símptomes relacionats amb la IDCV (infeccions significatives, malaltia autoimmunitària, retard del creixement, enteropatia, malignitat).
- Edat del 2n símptoma: edat en anys on apareixen símptomes de tipus diferent al 1r símptoma i relacionats amb la IDCV.
- Edat del 3r símptoma: edat en anys on apareixen símptomes de tipus diferents als 2 anteriors i relacionats amb la IDCV.
- Edat al diagnòstic: edat en anys en el moment que es realitza el diagnòstic d'IDCV.
- Retard diagnòstic: temps expressat en anys entre l'aparició del 1r símptoma i el diagnòstic de la IDCV.
- Edat a l'estudi: edat en anys en el moment que es realitza l'estudi analític i de proves complementàries de l'estudi.
- Immunoglobulines al diagnòstic (IgG, IgA, IgM): expressades en mil·ligrams per litre (mg/L) i estandarditzades per a la realització de l'estudi estadístic.
- Subclasses IgG al diagnòstic (IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, IgG<sub>4</sub>): expressades en mil·ligrams per litre (mg/L) i estandarditzades per a la realització de l'estudi estadístic.
- APRIL: valors expressats en nanograms per litre (ng/mL).



## **Resultats**





## 4. Resultats

---

Es reclutaren un total de 25 pacients controlats al nostre centre amb diagnòstic d'IDCV. Dinou pacients ja es controlaven a la nostra Secció en el moment d'iniciar l'estudi el 2011 i els altres 6 pacients van ser de nou diagnòstic entre el 2012 i el 2014.

### 4.1 Històries clíniques

A continuació es descriuen les històries clíniques resumides dels 25 pacients.

#### P01

Pacient de sexe masculí, caucàsic, sense antecedents familiars d'interès (no consanguinitat), preterme de 36 setmanes de gestació amb baix pes en relació amb l'edat gestacional (1.720 g) que a l'alta de la unitat neonatal presenta com a diagnòstics: patiment fetal, hipoglucèmia i reflux gastroesofàgic. Als 6 mesos de vida presenta una convulsió tonicoclònica generalitzada, requerint tractament antiepilèptic fins als 4 anys. A l'exploració presenta microcefàlia, que associada a retard mental motiva estudi amb cariotip 46,XY normal i es descarta la síndrome del cromosoma X fràgil (estudi de la zona repetitiva CGG del gen *FMR1*, per la tècnica de PCR amb encebadors flanquejants). Herniorràfia inguinal bilateral als 2 anys d'edat.

Des dels 6 anys d'edat presenta 2-3 episodis de pneumònia a l'any, endemés d'algun episodi de bronquitis de característiques infeccioses. Requereix 3 ingressos per realitzar tractament antibiòtic intravenós de les pneumònies, el darrer als 15 anys i 8 mesos on s'identifica un hemocultiu positiu a *S.pneumoniae*, i es realitza TC toràcica un mes més tard informat de lesions residuals a lòbul inferior esquerre i língula així com adenopaties mediastíniques i axil·lars probablement reactives. Arrel d'aquest ingrés es realitza estudi immunològic i es diagnostica d'IDCV als 15 anys i 10 mesos i s'inicia tractament substitutiu amb GGEV. Bona evolució posterior de la clínica infecciosa.

Als 15 anys inicia erupció cutània diagnosticada de psoriasi guttata, rebent tractament amb xampú de sulfur de seleni al 2,5 %, betametasona 0,05 % en crema i solució de betametasona 0,05% i àcid salicílic al 2%, i en el seguiment evoluciona a brots.

En el moment de realitzar l'estudi, el pacient i la família no volen realitzar proves d'imatge pulmonar, però si es realitza l'estudi analític amb administració de vacuna antipneumocòccica 23-valent, l'ecografia abdominal (esteatosis hepàtica moderada-greu, resta anodí) i l'espirometria (no valorable per dificultats en la col·laboració del pacient).

Als 22 anys d'edat en tractament substitutiu amb GGEV, es dona d'alta per edat i per continuar seguiment en un centre d'adults.

## **P02**

Pacient de sexe femení, caucàsica, sense antecedents de consanguinitat ni familiars d'interès.

Als 9 anys i 4 mesos inicia vitiligen controlat al Servei de Dermatologia, no realitza tractament, presenta lesions estables. Als 13 anys i 4 mesos arrel de quadre d'astènia es diagnostica d'AHAI, un any més tard (14 anys i 4 mesos) el 4t dia de quadre de cefalàlgia i augment de mucositat presenta convulsió generalitzada que motiva ingrés hospitalari. A urgències requereix administració de midazolam i diazepam per agitació i midriasi bilateral, es manté intubada a la unitat de cures intensives durant 4 dies en tractament amb dexametasona, una setmana més tard, ja a planta, presenta 2 noves crisis canviant-se el tractament de fenitoïna per carbamazepina. Durant l'ingrés es descarta metabolopatia, hipercoagulabilitat i meningitis. La TC cerebral presenta imatge compatible amb AVC (accident vascular cerebral) cortical frontal esquerra i una pansinusitis realitzant-se tractament antibiòtic intravenós. L'analítica mostra un descens en els nivells d'IgG i IgA, isoaglutinines negatives i manca de resposta vacunal (tètanus i poliomièlitis). Es diagnostica d'IDCV i s'inicia tractament substitutiu amb GGEV.

En l'evolució posterior:

Autoimmunitat: L'AHAI evoluciona a brots requerint tractament amb corticoides orals, als 3 anys del diagnòstic (17 anys i 3 mesos) associa plaquetopènia diagnosticant-se de

síndrome d'Evans. Realitza tractament amb rituximab (4 dosis setmanals) amb escassa resposta, des d'aleshores corticodependent.

Neurològica: Als 16 anys i 8 mesos es retira carbamazepina i al mes reingressa per convulsió tonicoclònica generalitzada en context de pas de GGEV. Presenta EEG (electroencefalograma) amb traçat de base en vigília anormal (brots d'ones delta d'elevada amplitud a regions frontals) decidint-se reiniciar carbamazepina. Tres mesos després reingressa per crisis comicials, es realitza RM cerebral que mostra lesió desmielinitzant temporooccipital dreta (també a tàlem dret, putamen esquerre i frontal dret), imatges a vèries regions, superficials, suggestives de vasculitis. Es realitza estudi reumatològic i serològic, tot negatiu, i una ARM (angiografia per RM) que resulta normal, descartant vasculitis. Als 19 anys presenta EEG amb traçat de base de vigília i de son espontani normal.

Infecciosa/respiratòria: Des del diagnòstic de l'AHAI presenta clínica de sinusitis crònica amb rinorrea quasi diària, sovint purulenta amb milloria parcial amb tractament antibiòtic oral. Als 14 anys presenta pneumònia a LIE (lòbul inferior esquerre) tractada ambulatòriament. A l'ingrés dels 14 anys i 4 mesos per l'AVC, al detectar-se pansinusitis es realitza tractament antibiòtic iv. Durant els següents 6 mesos rep múltiples tractaments amb antibiòtics orals (cultius d'esput positius per *Moraxella catarrhalis* i *S.aureus*), fins que al detectar-se imatge radiològica suggestiva de possible afectació de la paret interna del si maxil·lar esquerre, amb cultiu de la secreció nasal positiu per *S.pneumoniae* reingressa per a tractament amb meropenem iv. Als 3 mesos reingrés per quadre de febre amb tos (ranera i sibilants bilaterals) presenta a la TC de sins nasals una pansinusitis i a la radiografia de tòrax una peribronquitis bibasal, es realitza tractament amb meropenem iv. Posteriorment, es realitza TC toracoabdominal (15 anys i 3 mesos) que mostra limfadenopaties mediastíniques a l'espai prevascular, paratraqueals, hiliars bilaterals i subcarinal (fins a 35 mm de diàmetre), així com múltiples imatges nodulars disperses en ambdós camps pulmonars, de cor desllustrat i predomini a les bases pulmonars; presència d'una massa d'adenopaties retroperitoneals, central a nivell hilis renals, interaortocava i anterior als grans vasos; esplenomegàlia difusa de 16,5 x 77 cm i ronyons amb zona cortical heterogènia, que no permet excloure imatges pseudonodulars.

Es realitza biòpsia pulmonar amb diagnòstic de pneumònia intersticial limfocítica i s'inicia tractament amb metilprednisolona intravenosa. Ha seguit presentant episodis de clínica sinusal i respiratòria amb tos productiva, habitualment durant la tardor i l'hivern, rebent múltiples tractaments antibiòtics. Als 18 anys un episodi de giardiosi tractat amb metronidazole. Als 19 anys presente cultiu nasofaringi positiu a *Haemophilus influenzae* sensible a amoxicil·lina.

Als 20 anys d'edat en tractament amb GGEV, carbamazepina i corticoides orals es dona d'alta per continuar seguiment en un centre d'adults.

### **P03**

Pacient de sexe femení, caucàsica, amb sindactília entre el 2n i 3r dits d'ambdós peus, sense antecedents de consanguinitat i antecedents familiars de pare mort de càncer pulmonar i avi matern afecte de càncer de laringe.

Als 3 anys d'edat presenta pneumònia a lòbul superior dret que requereix ingrés i en 6 mesos reingressa amb el mateix diagnòstic endemés de varicel·la diagnosticada el dia de l'alta. Presenta amigdalitis i otitis mitjanes de repetició amb otitis serosa persistent i hipoacúsia de transmissió que comporten la realització d'adenoidectomia més drenatge transtimpànic bilateral a l'edat de 5 anys amb resolució de les infeccions.

Als 11 anys d'edat presenta tumoració a l'engonal dreta de 4 x 3 cm realitzant-se una biòpsia. L'anatomia patològica informa de limfoma no hodgkinià (limfoma de baix grau de cèl·lula B marginal). Limfoma amb colonització dels centres germinals per limfòcits petits. Immunohistoquímicament els fol·licles mostren expressió de CD20, CD5 (dèbil), CD43 i Ki-67. També existeix expressió fol·licular per a BCL-2 tot i que el CD10 és negatiu, descartant limfoma fol·licular. Existeix expressió monotípica interfol·licular de cadenes kappa (monoclonal). No existeix expressió de ciclina-D1 que descarta limfoma de cèl·lules del mantell. No es demostra per FISH, la translocació t(11,14) del limfoma del mantell ni la t(14,18) del limfoma fol·licular. En l'estudi d'extensió a la punció medul·lar no s'evidencia infiltració, la TC toràcica no mostra adenopaties patològiques, a la RM abdominal s'identifiquen limfadenopaties de 3-4 cm de diàmetre inguinals dretes i de 2-3 cm a cadenes ilíaqües externes amb alteració del senyal fins regió retroperitoneal amb

conglomerat adenopàtic de 6 x 4 x 2 cm, d'altra banda el rastreig amb SPECT67Ga mostra acumulació de traçador a regió inguinal dreta per activitat adenopàtica. Es classifica com estadi II i s'inicia tractament amb quimioteràpia CHOP (ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina i prednisona, cada 21 dies, 6 cicles) amb remissió completa.

Als 13 anys presenta quadre de malestar general amb pal·lidesa, vòmits, nàusees i cefalàlgia que es diagnostica d'AHAI. Rep tractament amb corticoides orals amb resposta parcial. Presenta mal control evolutiu que tampoc respon a GGEV a dosis altes (1 g/kg/dia, 2 dies), decidint-se iniciar tractament amb rituximab durant quatre setmanes (375 mg/m<sup>2</sup>/setmana). Presenta recaiguda als 6 mesos necessitant transfusió de concentrat hematies, sense resposta a GGEV ni corticoides, s'administra 2n cicle de rituximab.

Als 15 anys, 2 anys després d'haver acabat el tractament amb rituximab, amb la limfopènia B pràcticament recuperada presenta disminució persistent d'IgG i IgA (que ja s'havien detectat baixes al diagnòstic del limfoma). Una vegada descartada la malaltia limfoproliferativa autoimmunitària (cèl·lules T doble negatives normals) es diagnostica d'IDCV i s'inicia tractament substitutiu amb GGEV.

Als 16 anys presenta augment de grandària de gangli submandibular dret. L'anatomia patològica és diagnòstica de limfoma de zona marginal (limfoma MALT) amb increment de cèl·lules grans i restricció de cadena lleugera kappa. L'estudi del VEB és negatiu tant per hibridació in situ (gens EBER) com per la proteïna latent de membrana. Així, les dues neoplàsies són limfomes marginals de baix grau amb histologia i immunohistoquímica similars. En l'estudi d'extensió amb SPECT67Ga es mostra infiltració parotídia dreta i imatge d'activitat adenopàtica axil·lar esquerra. Es realitza tractament amb rituximab (375 mg/m<sup>2</sup>/dosi, inducció amb 6 dosis setmanals, seguit de 4 dosis mensuals) amb remissió completa.

Als 18 anys es remet a centre de referència d'adults per continuar seguiment, estant en tractament substitutiu amb GGEV. Als mesos es detecta recurrència del limfoma MALT.

#### P04

Pacient de sexe masculí, caucàsic, sense antecedents de consanguinitat. En els antecedents familiars destaca mare afecte d'IDCV (bronquièctasis, cirrosi hepàtica no filiada) i celiaquia, pare amb al·lèrgia a penicil·lina.

Com antecedents personals havia presentat convulsió febril a l'any de vida que no repeteix. Intervingut d'hidrocele i herniorràfia als 3 anys d'edat. Als 4 anys, varicel·la no complicada.

Des dels 4 anys d'edat presenta infeccions respiratòries de repetició: otitis mitjanes, sinusitis i bronquitis. Als 7 anys per prova de la tuberculina positiva que es tracta amb hidrazides durant 6 mesos, persistència de la clínica infecciosa i tenint en compte l'antecedent familiar d'immunodeficiència es realitza analítica on es detecta disminució d'IgA i IgM i es remet al nostre centre per a control. En el seguiment es detecta disminució progressiva d'IgG, així com una manca de resposta vacunal diagnosticant-se d'IDCV als 9 anys. Tres anys després del diagnòstic, per persistència de les infeccions de repetició tot i adenoïdectomia amb drenatge transtimpànic bilateral realitzat en dues ocasions (8 i 10 anys), i col·locació de drenatges en 2 ocasions més (4 intervencions en total), s'inicia tractament substitutiu amb GGEV.

Als 8 anys en l'estudi de susceptibilitat genètica per a la malaltia celíaca es detecta positivitat per HLA-DQ2, DQA1\*0501 i DQB1\*0201, anticossos IgG antiendomisi negatius, es realitza biòpsia jejunal que mostra hiperplàsia limfoide nodular sense atròfia vellositària.

Als 17 anys es realitza estudi genètic del gen *TNFRSF13B*, s'estudien exons 1-5 sense detectar mutacions, en l'estudi matern es detecta una mutació de baixa penetrància, c.542C → A, p.Ala-181-Glu, en heterozigosi.

Als 19 anys realitzant tractament amb GGEV es remet a un centre d'adults per continuar seguiment.

## **P05**

Pacient de sexe masculí, caucàsic, sense antecedents de consanguinitat que en els antecedents familiars destaca pare afecte de diabetis mellitus de tipus 1 i mare amb plaquetopènia crònica.

Durant el segon any de vida pateix múltiples infeccions respiratòries majoritàriament de vies altes, tractades amb antibioteràpia oral que no requereixen ingrés. Posteriorment presenta 2 episodis d'otitis mitjanes febrils cada any fins als 12 anys. Gastroenteritis agudes 1-2 episodis anuals. Als 6 anys varicel·la sense complicacions. Presenta epistaxis de repetició dels 2 als 12 anys, sense quadre infecciós ni traumatisme acompanyant.

Als 13 anys en analítica de preoperatori per a circumcisió es detecta trombocitopènia, es realitza estudi diagnosticant-se de PTI. Simultàniament a l'observar-se un descens en valors IgG i IgA es deriva a la nostra secció per a avaluació, on completats els estudis (manca de resposta vacunal a tètanus, poliomielitis i rubèola, grup sanguini AB amb Rh+) es diagnostica d'IDCV i conjuntament amb Hematologia es decideix iniciar tractament amb GGEV. Posteriorment va presentant brots de trombocitopènia, el primer amb resposta a dosis altes de GGEV, però amb resposta parcial posterior que requereix de tractament amb corticoides orals.

Presenta un episodi de sinusitis maxil·lar dreta tractat amb amoxicil·lina-clavulànic als 19 anys. Durant el mateix any es realitza derivació per seguir control a centre d'adults, manté tractament de manteniment amb GGEV i prednisona 10 mg cada 48 hores.

## **P06**

Pacient de sexe masculí, caucàsic, sense antecedents de consanguinitat. En els antecedents familiars destaca un germà menor afecte de deficiència d'IgA, amb descens dels nivells d'IgM i del nombre de limfòcits T CD4, clínicament asimptomàtic, endemés una tieta materna morta als 3 mesos de vida per pneumònia i una cosina materna morta de leucèmia als 8 anys.

Als 4 mesos de vida presenta un episodi de bronquiolitis, des d'aleshores i fins als 6 anys de vida infeccions respiratòries de repetició (sobretot otitis mitjanes i laringitis), de curs



normal, amb bona resposta als tractaments prescrits. Posteriorment, segueix presentant algun episodi de bronquitis, fins que als 10 anys reinicia quadres d'otitis mitjanes i amigdalitis de repetició, als 12 anys presenta abscess periamigdalí i pneumònies als 13 i 14 anys, decidint-se estudi immunitari. Presenta disminució dels nivells d'IgG, IgA i IgM, amb isoaglutinines negatives i nivells protectors front a tètanus (vacunació sistemàtica feia 6 mesos), valorat conjuntament amb la clínica es diagnostica d'IDCV i s'inicia tractament substitutiu amb GGEV deixant de presentar quadres infecciosos.

Als 19 anys en tractament amb GGEV es deriva a centre d'adults per a seguiment.

## **P07**

Pacient de sexe femení, caucàsica, sense antecedents de consanguinitat, en els antecedents familiars presenta: mare i àvia materna afectes de càncer de mama, tieta paterna amb IDCV en tractament amb GGEV, germà gran amb deficiència selectiva d'IgA i asma bronquial extrínseca per al·lèrgia a àcars, germana menor amb diabetis mellitus de tipus 1, deficiència d'IgA i disminució dels nivells d'IgG amb correcta resposta vacunal i isoaglutinines positives.

Des dels 2 anys presenta infeccions respiratòries de repetició, sobretot otitis mitjanes i bronquitis, i varicel·la sense complicacions. Per persistència de la clínica als 6 anys es deriva per estudi observant-se deficiència d'IgA amb IgG i IgM normals. Als 7 anys pneumònia tractada ambulatoriament. Com segueix presentant infeccions respiratòries de repetició es revalua: es descarta al·lèrgia respiratòria (proves cutànies a pneumoal·lèrgens respiratoris i IgE específiques negatives), analíticament presenta disminució IgG i IgA, isoaglutinines negatives i manca de resposta a vacuna antipneumocòccica 23-valent. Es diagnostica d'IDCV i s'inicia tractament substitutiu amb GGEV. Des dels 13 anys presenta disminució persistent dels nivells d'IgM. Persisteixen infeccions respiratòries de repetició durant l'any amb milloria a l'estiu que són menys freqüents i intenses que abans d'iniciar el tractament amb GGEV (comprovats nivells correctes d'IgG sèrica).

Des dels 13 anys presenta trombocitopènia, amb nivells entre 80.000 i 120.000 plaquetes/mm<sup>3</sup>. Refereix episodis d'astènia associats a l'aparició d'hematomes i

hipermenorrea (amb alguns sagnats vaginals de fins a un mes de duració tot i tractament amb anticonceptius orals). Als 14 anys es diagnostica de psoriasi unguial, rep tractament amb corticoides tòpics.

Als 15 anys presenta quadre de tos persistent amb dificultat respiratòria i rinorrea purulenta sense resposta a antibiòtics orals i salbutamol inhalat. Es realitza TC de sins paranasals que mostra engruiximent de la mucosa maxil·lar esquerra, es decideix ingrés per a tractament antibiòtic iv sense milloria, aleshores es realitza TC toràcica on s'evidencien múltiples nòduls pulmonars bilaterals d'augment de densitat en vidre desllustrat on en destaca un de 28 x 23 mm a segment VI de lòbul inferior dret. Es realitza biòpsia pulmonar que mostra arquitectura pulmonar preservada amb presència de septes interalveolars engruixits amb cel·lularitat al seu interior, de predomini limfòcits. A nivell intraalveolar s'observa acumulació de limfòcits que formen centres germinals de forma focal. A nivell subpleural s'observen agregats limfocitaris formant centres germinals. L'estudi immunohistoquímic mostra l'existència de limfòcits CD3 i CD20. Es diagnostica de pneumònia intersticial limfocítica. S'inicia tractament amb prednisona intravenosa (1 g/dia, 3 dies consecutius) realitza un total de 12 cicles mensuals, amb disminució progressiva de la dosi de corticoides durant 6 mesos fins a la suspensió. Als 18 anys presenta un patró funcional respiratori mixt amb test broncodilatador negatiu, a la TC toràcica persisteixen múltiples nòduls pulmonars bilaterals, la majoria són petits i centrolobulars.

Al control ecogràfic dels 18 anys es detecta esplenomegàlia (no present als controls previs). En tractament amb GGEV es remet per a seguiment en un centre d'adults.

## **P08**

Pacient de sexe masculí, caucàsic, sense antecedents de consanguinitat, en els antecedents familiars mare i germana amb al·lèrgia respiratòria, avi patern mort de càncer gàstric, tieta paterna càncer de mama, besàvia materna amb adenocarcinoma gàstric i tiet patern amb esquizofrènia.

A l'any d'edat presenta episodi de diarrees prolongat que motiva estudi digestiu mitjançant gastroduodenoscòpia macroscòpicament normal, es realitza biòpsia mucosa

jejunal amb lesions mínimes, es descarta celiaquia i giardiosi. Varicel·la als 3 anys d'edat. Per estancament pondoestatural es realitza analítica als 5 anys d'edat que mostra disminució dels nivells d'IgA, IgM i IgG<sub>2</sub>, i isoaglutinines negatives, es repeteix als 6 mesos amb normalització d'IgA, però manté nivells disminuïts d'IgG, IgG<sub>2</sub> i IgM. Es manté clínicament asimptomàtic, als 10 anys a control analític presenta descens de totes les immunoglobulines (IgG 836 mg/L (6.360-16.800)), isoaglutinines negatives i manca de protecció vacunal front a tètanus, rubèola i xarampió. Es diagnostica d'IDCV i s'inicia tractament substitutiu amb GGEV.

Evolució sense complicacions. Als 18 anys presenta episodi de tos persistent afebril amb estudi de funció pulmonar i TC toràcica normals. Als 19 anys es canvia tractament a GGSC.

## **P09**

Pacient de sexe femení, caucàsica, sense antecedents de consanguinitat ni familiars d'interès.

Presenta des dels 7 mesos de vida fins als 4 anys episodis de bronquitis de repetició, amb estudi al·lèrgològic negatiu. Aproximadament des de l'any de vida otitis mitjanes supuratives de repetició, amb perforació timpànica bilateral i hipoacúsia que comporta adenoïdectomia i drenatges transtimpànics als 3 anys d'edat. Persisteixen infeccions de repetició. Als 5 anys d'edat gastroenteritis per salmonel·la. Als 5 anys i 6 mesos requereix reintervenció realitzant-se miringoplàstia oïda esquerra. Als 9, 11, 13 i 17 anys d'edat pateix pneumònies.

Als 2 anys d'edat es diagnostica de malaltia celíaca (amb HLA-DQ2, DQA1\*0501 i DQB1\*0201 positius) i s'instaura dieta sense gluten. Als 3 anys presenta hipertransaminèmia persistent, tots els estudis buscant causa infecciosa i autoimmunitària són negatius i la persistència en el temps fa decidir biòpsia hepàtica amb anatomia patològica diagnòstica d'hamartoma hepàtic. Als 7 anys d'edat es reintrodueix el gluten a la dieta i el control endoscòpic confirma de nou atròfia vellositària greu, des d'aleshores segueix dieta sense gluten.

Als 8 anys i 11 mesos presenta debut de diabetis mellitus de tipus 1 amb quadre de cetoacidosi. Als 10 anys i 4 mesos es diagnostica d'hipotiroïdisme autoimmunitari, instaurant-se tractament amb levotiroxina sòdica oral. Des de lactant retard de creixement amb pesos i talles de forma mantinguda per sota de la 2a i 3a DE, amb estudi hormonal normal.

A l'analítica del debut diabètic es detecta una disminució dels nivells d'IgG, a expenses d'IgG<sub>1</sub> i IgG<sub>2</sub>, amb IgM i IgA normals així com manca de resposta a vacuna antitetànica i antipneumocòccica 23-valent. Valorant les infeccions de repetició, una pneumònia aquell any, i el fet de presentar 2 malalties autoimmunitàries conjuntament amb l'analítica s'orienta com IDCV i es decideix iniciar tractament amb GGEV, disminuint de forma franca el nombre d'infeccions respiratòries. En el seguiment a partir del 16 anys presenta nivells d'IgA disminuïts de forma mantinguda, confirmant-se el diagnòstic d'IDCV. En les analítiques des dels 9 anys i durant el seguiment presenta un nombre de limfòcits T CD4 disminuïts, amb estudi de proliferació limfocitària normal. Des dels 17 anys presenta anèmia hemolítica (haptoglobina baixa, bilirubina total i conjugada elevades, ferro i ferritina normals, test d'antiglobulina indirecte i directe negatius, estudi de glucosa-6-fosfat deshidrogenasa i piruvat quinasa normals) no filiada.

Als 19 anys es remet per a seguiment al seu centre de referència d'adults.

## **P10**

Pacient de sexe maculí, sense consanguinitat que en els antecedents familiars destaca autoimmunitat i al·lèrgia. Mare afecta de cèliaquia i malaltia de Graves-Basedow, 3 germans, tots celíacs, un d'ells endemés diabetis mellitus de tipus 1, un altre amb rinitis al·lèrgica i dermatitis atòpica i el germà menor amb deficiència d'IgA.

Diagnosticat de cèliaquia als 15 mesos de vida (HLA-DQ2, DQA1\*0501 i DQB1\*0201 positius). Als 17 mesos de vida presenta primer episodi de pneumònia, entre els 4 i 6 anys presenta 4 episodis més de diferents localitzacions. També als 4 anys presenta varicel·la intensa, tot i que sense complicacions. Es realitza estudi de la immunitat on es detecta descens dels nivells d'IgG, IgM i IgA, i isoaglutinines negatives, diagnosticant-se d'IDCV.

Donat que el pacient es troba clínicament estable, sense infeccions en els darrers mesos i amb bon desenvolupament ponderal es decideix control evolutiu.

En la revaluació als 13 anys es manté clínicament asimptomàtic, persisteixen nivells disminuïts de les immunoglobulines, té nivells protectors d'anticossos IgG antitetànics i negatius per a poliomielitis, s'administra vacuna antipneumocòccica 23-valent sense resposta. Als 17 anys manté immunoglobulines baixes, isoaglutinines negatives, ha perdut nivells d'anticossos vacunals que tenia en front a rubèola i xarampió.

Als 18 anys es remet a centre d'adults per continuar seguiment.

## **P11**

Pacient de sexe masculí, caucàsic, sense antecedents de consanguinitat, en els antecedents familiars: pare afecte de diabetis mellitus de tipus 2 i una tieta paterna amb avortaments de repetició (alteració cromosòmica).

Pacient a terme de 37 setmanes de gestació amb baix pes al naixement (1.900 g), ingressa a unitat neonatal on presenta hipoglucèmia i hepatitis colestàsica idiopàtica que es resolgué a l'any d'edat. Presenta retard ponderal des del naixement, més accentuat des dels 5 anys. Als 3 anys es diagnostica de displàsia epifisial múltiple.

Des del punt de vista infecció, als 2 mesos de vida requereix ingrés per pielonefritis aguda per *Klebsiella pneumoniae* i als 10 mesos reingressa per pneumònia a lòbul superior esquerre. Des d'aleshores infeccions de vies respiratòries altes de repetició, sobretot otitis mitjanes i sinusitis. Als 7 anys i 10 mesos presenta herpes zòster, moment en el que es deriva al nostre servei per estudi immunològic. Es realitza analítica on es detecta disminució IgA i IgG a expenses d'IgG<sub>2</sub> i IgG<sub>3</sub> i isoaglutinines negatives (als 6 anys d'edat tenia analítica amb immunoglobulines normals per la seva edat). Es realitza control a l'any on s'afegeix descens d'IgM i IgG<sub>1</sub>, es diagnostica d'IDCV i s'inicia tractament substitutiu amb GGEV. A partir dels 11 anys manté nivells dintre dels valors de referència per a la IgM i persisteixen nivells baixos d'IgA.

Referent a autoimmunitat: als 4 anys i 8 mesos diagnòstic d'alopècia areata que evoluciona a alopècia universal, als 4 anys i 10 mesos tiroïditis autoimmunitària

(hipotiroidisme) en tractament amb levotiroxina sòdica, als 6 anys i 6 mesos vitiligen, 2 mesos més tard artritis idiopàtica juvenil poliarticular amb ANA i FR negatius (inicialment tractament amb metotrexat però per mala resposta es canvia a etanercept i posteriorment adalimumab). Als 7 anys i 6 mesos queratoconjuntivitis seca (síndrome de Sjögren). Als 10 anys i 4 mesos presenta hipoacúsia sensorial i neuropatia desmielinitzant autoimmunitària que l'obliga a anar en cadira de rodes per manca de força per a la deambulació, diagnosticat mitjançant electromiografia i electroneurografia, es tractà amb dosis elevades de GGEV (1 gr/kg) amb milloria clínica. Als 17 anys i 9 mesos diagnòstic de psoriasi pustulosa confirmat per biòpsia cutània, en tractament amb corticoides tòpics. Talla baixa amb desenvolupament puberal complet i talla final de 150,5 cm, descartat hipogonadisme, insuficiència suprarenal, diabetis insípida i mellitus i estudi mineralització òssia normal.

Als 18 anys es deriva per seguir controls al seu centre de referència d'adults en tractament amb GGEV, levotiroxina sòdica i adalimumab.

## **P12**

Pacient de sexe masculí, caucàsic, antecedent de consanguinitat (avis materns cosins segons), i antecedents familiars d'autoimmunitat en primer grau (pare amb glomerulonefritis i psoriasi) i d'al·lèrgia i neoplàsia en 2n grau (avi patern rinitis al·lèrgica i àvia paterna càncer de pulmó).

Als 3 mesos de vida presenta quadre de vòmits recurrents, per sospita d'al·lèrgia a proteïnes de llet de vaca es realitza analítica on es detecta disminució dels nivells d'IgA, amb IgE específiques a llet i fraccions negatives, es realitza prova d'exposició controlada oral a llet de vaca sent tolerant, es diagnostica de reflux gastroesofàgic per trànsit esofagogastroduodenal. Es realitzen controls analítics per disminució d'IgA, als 20 mesos s'afegeix disminució IgG. Als 2 anys i 8 mesos presenta cel·lulitis orbitària que requereix tractament amb cefuroxima iv. Als 4 anys s'administra vacuna antipneumocòccica 23-valent sense resposta. Als 6 anys manté nivells disminuïts d'IgA i IgG, sense resposta vacunal, sent diagnosticat d'IDCV. Clínicament no presenta infeccions greus ni recurrents no instaurant-se tractament substitutiu. Durant l'adolescència va presentant uns 3

episodis anuals d'infecció de vies respiratòries altes i baixes que necessiten tractament antibiòtic. Migranya des dels 13 anys d'edat. Als 14 anys s'administra vacuna antitetànica sense resposta. A partir dels 15 anys presenta resposta vacunal protectora a vacunes proteiques i antipneumocòccica 23-valent, mantenint nivells d'IgG i IgA disminuïts per edat, als 18 anys normalitza els valors d'IgG. Des dels 6 anys de vida manté nivells de limfòcits T CD4 baixos, amb estudi proliferació normal.

### **P13**

Pacient de sexe femení, d'origen marroquí, pares consanguinis (cosins germans), filla gran de 4 germans (els 3 germans menors sans).

Des de l'any de vida presenta diarrea crònica no filiada i estancament pondoestatural. Als 8 anys d'edat es trasllada a viure a Espanya i es avaluada al seu centre de referència on detecten hipogammaglobulinèmia i anèmia i la deriven al nostre centre amb sospita d'IDCV. A la primera visita, l'examen físic mostra pal·lidesa, adenopaties laterocervicals, ranera pulmonar bilateral de predomini basal i esplenomegàlia. Després d'estudi immunològic complert es diagnostica d'IDCV i s'inicia tractament substitutiu amb GGEV. Es realitza endoscòpia esofagogastroduodenal amb biòpsia intestinal que mostra lesions mínimes duodenals amb vellositats normals i augment de làmina pròpia per component inflamatori de predomini limfocitari. L'estudi de funció pulmonar mostra un patró mixt sense resposta a broncodilatadors. Es realitza TC pulmonar que mostra múltiples nòduls pulmonars bilaterals i alguns subpleurals de fins a 2 cm de diàmetre, adenopaties paratraqueals, precarinals, subcarínica, hiliars bilaterals i axil·lars bilaterals de predomini esquerre. Aquestes lesions capten a l'estudi amb FDG-PET. Es realitza biòpsia pulmonar que confirma diagnòstic de limfoma de zona marginal de baix grau. S'observa infiltrat limfoide atípic, l'estudi immunohistoquímic mostra una població que expressa CD79a, CD20, i presenta restricció de cadena lambda i expressió de BCL-2, expressió Ki-67 pràcticament del 100% als centres. La proteïna latent de membrana (LPM-1) i la hibridació in situ per al mRNA dels gens EBER-1 i 2 del VEB són negatius. També CD3, CD5 i CD43 són negatius. L'estudi molecular confirma una expansió B clonal. L'estudi per PCR de virus a la biòpsia va ser positiu per a VEB i negatiu per a herpesvirus humà 1, 2, 6, 7 i 8, CMV i VVZ. L'estudi d'extensió va mostrar citologia de moll d'os i líquid cefaloraquidi

normals. Es realitza tractament amb anticòs monoclonal anti-CD20 (rituximab 375 mg/m<sup>2</sup>; 4 dosis setmanals a la fase d'inducció, seguit de 4 dosis mensuals a la fase de consolidació i una fase de manteniment amb dosis cada 2 mesos fins a completar 2 anys de tractament) amb remissió completa.

Presenta pneumònies als 11 i 12 anys d'edat.

Donada la persistència de la diarrea es realitza endoscòpia que mostra úlceres colòniques amb PCR positiva per a CMV. Als 14 anys presenta brot de colitis greu, amb escassa resposta a diferents tractaments. Acaba requerint colectomia total amb ileostomia, l'anatomia patològica conclou de malaltia inflamatòria intestinal indeterminada.

Posteriorment es manté estable, amb estancament pondoestatural, sense diarrea i amb osteoporosi secundària. Finalment als 17 anys i mig ingressa en un altre centre per infecció urinària, múltiples complicacions durant l'ingrés amb alteració hidroelectrolítica, diarrea persistent amb cultius negatius, esplenomegàlia de 16 cm, dolor abdominal i anemització progressiva que requereix transfusió de concentrat d'hematies. El mal estat general impedeix la realització de fibrogastrososcòpia. Es produïeix un ràpid empitjorament amb dispnea, dessaturació i disminució del nivell de consciència motiu pel que es trasllada a UCI, on es diagnostica de xoc sèptic (infiltrat i condensació pulmonar bilateral) refractari a tractaments sent èxitus.

#### **P14**

Pacient de sexe masculí, caucàsic, sense antecedents de consanguinitat, en els antecedents familiars de 1r grau destaca pare afecte de malaltia de Parkinson, germana gran amb talla baixa, germana menor amb talla baixa i estudi immunològic amb descens d'IgA i IgM, resposta vacunal present però pèrdua ràpida d'aquesta (per a vacunes proteiques, polisacàrides i víriques), isoaglutinines negatives, nivells de limfòcits T4 baixos (al voltant de 500 limfòcit T CD4/mm<sup>3</sup>) i resposta proliferativa normal. Antecedents familiars de 2n grau: cosí germà matern amb deficiència selectiva d'IgA, rinitis al·lèrgica per al·lèrgia a àcars i portador sa de predisposició genètica per a la celiaquia; tieta materna amb rinitis al·lèrgica, àvia paterna morta per neoplàsia hepàtica i tiet matern també mort per càncer renal.



Presenta durant els 3 primers anys de vida infeccions respiratòries sense complicacions, varicel·la de curs normal als 2 anys d'edat i 2 episodis de pneumònia de tractament ambulatori als 2 i 3 anys de vida.

Talla entre percentil 10-25 % des del naixement fins als 5 anys, des d'aquest moment descens mantenint-se per sota el 3%, als 10 anys aquesta persistència motiva estudi per part d'endocrinologia que orienta com talla baixa familiar, tot i que per detectar-se descens d'immunoglobulines el seu pediatre repeteix i amplia l'estudi, sent derivat al nostre servei per sospita d'IDCV. Es realitza estudi immunològic que mostra disminució dels nivells d'IgG i IgM, resposta vacunal protectora però que perd abans de 3 anys tant per a vacunes proteiques (tètanus, diftèria, hepatitis B), en menys d'1 any per vacunes víriques (xarampió i rubèola) i sense resposta a la vacuna de polisacàrids antipneumocòccica 23-valent, endemés presenta uns nivells de limfòcits T CD4 persistentment baixos al llarg del seguiment (xifres al voltant de 500 cèl/mm<sup>3</sup>), isoaglutinines (grup sanguini O, Rh+) anti-A positives i anti-B negatives, repetidament.

Asintomàtic des del punt de vista infecció, refereix des dels 16 anys diarrees sense associació a altres símptomes 1-2 dies al mes, no identifica desencadenants (situació, aliment, ...), es descarta celiaquia i paràsits intestinals. Als 18 anys es refereix a centre d'adults per continuar seguiment.

## **P15**

Pacient de sexe masculí, caucàsic, sense antecedents de consanguinitat, que presenta com antecedents familiars mare afecta de vitiligen i hipertiroïdisme, endemés de colèstasi hepàtica durant l'embaràs i àvia materna càncer pulmonar.

Nounat a terme de baix pes en relació amb l'edat gestacional (2.050 g). Als 2 mesos de vida presenta varicel·la no complicada. A l'any d'edat presenta parotiditis, i a partir d'aleshores bronquitis, otitis mitjanes i conjuntivitis de repetició amb múltiples cultius positius (*H.influenzae* i *S.pyogenes* als cultius conjuntivals i *S.pneumoniae*, *Ps.aeruginosa* i *S.aureus* als òtics). Als 2 anys es realitza adenoïdectomia i amigdalectomia, als 4 anys per persistència de la clínica es col·loquen drenatges transtimpànics bilaterals.

Síndrome mononucleòsic als 4 anys amb IgG i IgM a CMV positives. Als 5 anys s'orienta com una possible IDCV (IgG i IgM normals, absència d'IgA, disminució d'IgG<sub>2</sub> i IgG<sub>3</sub>, nivells d'IgG antitetànics protectors, resposta proliferativa limfocitària negativa per Con A i PHA, positiva per PWM) i s'inicia tractament amb GGEV. Als 5 mesos d'iniciar tractament ingressa per cel·lulitis orbitària preseptal dreta i 6 mesos més tard per otomastoïditis dreta. Persisteixen infeccions respiratòries de repetició (pneumònies, otitis i conjuntivitis) tot i nivells normals d'IgG sèrica total i de les subclasses. Rep tractament amb GGEV cada 2-3 setmanes ja que a l'espaiar dosis presenta infeccions. Herpes cutanis de repetició (PCR herpes 1 positiu i herpes 2 negatiu). Estancament pondoestatural des de primera infància, pes a percentil 10-25% i talla a -1 DE fins als 7 anys i posteriorment a <3% i -2 DE, respectivament.

Als 8 anys episodi d'adenitis cervical i inguinal persistent, es realitza biòpsia ganglionar inguinal amb diagnòstic d'hiperplàsia fol·licular reactiva, negativa per a cèl·lules malignes amb PCR per a VEB positiva en el gangli i negativa en sang perifèrica. Als 12 anys nou episodi d'adenitis cervical persistent, es realitza biòpsia d'adenopatia cervical (13 anys) que confirma limfoma no hodgkinià de baix grau de zona marginal de tipus pediàtric. Estudi immunohistoquímic demostra positivitat en les cèl·lules atípiques per antígens de línia B CD20 i CD79a i restricció de cadenes lambda, i negativitat per CD10, BCL-6 i BCL-2. Estudi per hibridació in situ per detecció del VEB positiu, con també l'estudi del gangli per PCR per a VEB. Es realitza estudi d'extensió negatiu a moll d'os i LCR. En el FDG-PET abundants adenopaties de característiques patològiques classificant-se d'estadi 3. S'inicia tractament amb rituximab (dosis de 375 mg/m<sup>2</sup> amb un primer cicle d'inducció de 4 dosis setmanals, seguit d'una fase de consolidació amb 4 dosis a intervals mensuals i finalment la fase de manteniment amb dosis bimensuals fins completar 2 anys de tractament) amb remissió completa.

Pacient amb nivells d'IgM elevades/normals fins 10 mesos d'iniciat rituximab, des d'aleshores manté nivells baixos d'IgM. IgA sempre baixa. Es descarta síndrome d'HiperIgM amb expressió correcta de CD40 i CD40L, tampoc presenta alteracions en el gen *AID*. També se descarta síndrome limfoproliferatiu lligat a X, estudi gen *SH2D1A* sense alteracions. Durant el tractament del limfoma es detecten bilirubines totals i conjugades

persistentment elevades, motiu pel que als 14 anys es realitza estudi genètic que confirma síndrome de Gilbert (polimorfisme *UGT1A1* en homozigosis).

Als 17 anys torna a presentar augment de les adenopaties laterocervicals, la biòpsia mostra hiperplàsia fol·licular limfoide atípica, als 6 mesos per persistència de les adenopaties la nova biòpsia conclou de limfoma marginal de baix grau. Es decideix conducta expectant. Als 6 mesos en estudi de l'exoma es detecta mutació a *PIK3R1*. Estudi PET-TC mostra adenopaties laterocervicals i submaxil·lars bilaterals, de predomini esquerre, les més grans mesuren 23 mm d'eix major a l'esquerre i 27 mm a la dreta, també adenopaties de menor mida a ambdues foses supraclaviculars. Atelèctasi laminars bibasals. Melsa augmentada de grandària (14 cm) amb melsa accessòria. Adenopatia anterior a psoes dret e 14 mm de diàmetre màxim, discreta quantitat de líquid lliure a pelvis. En el PET captació patològica de 18F-FDG a ambdues cadenes ganglionars laterocervicals, increment de mida i grau de captació de l'adenopatia supraclavicular dreta i adenopatia activa per davant del psoes dret. Conjuntament amb oncologia es decideix tractament amb rapamicina, a la revaluació als 5 mesos han disminuït les adenopaties cervicals, es troba millor, es poden espaiar les GGEV a cada 3 setmanes sense recaigudes infeccioses i les proves d'imatge (PET-TC) mostren disminució en la captació del traçador, sobretot a fosa clavicular esquerre i per davant de psoes.

## **P16**

Pacient de sexe masculí, caucàsic, sense antecedent de consanguinitat, en els antecedents familiars presenta germà amb al·lèrgia alimentària i àvia paterna amb artritis reumatoide.

Presenta des dels 5 mesos fins als 4-5 anys infeccions de repetició on predominen les infeccions respiratòries de vies altes de característiques víriques i de correcta evolució, la varicel·la, una otitis mitjana i 3-4 episodis d'amigdalitis. Dermatitis atòpica els primers anys de vida. Dels 5 als 12 anys bé, excepte algun quadre catarral febril. Des dels 13 anys infeccions respiratòries que acaben complicant-se amb febre i no curen fins que s'instaura tractament antibiòtic, 1 episodi cada 4-6 setmanes, i una pneumònia

(condensació a lòbul inferior dret), presenta astènia persistent. TC sinus on s'observa sinusitis maxil·lar bilateral, sense nivells hidroaeris i hipertròfia de cornets.

Es deriva al nostre servei per estudi immunològic mostrant descens d'IgG i IgA, protecció en front a tètanus i diftèria, no protecció front a *S.pneumoniae*, s'administra vacuna antipneumocòccica de polisacàrids 23-valent sense resposta, posteriorment vacuna antipneumocòccica conjugada 13-valent també sense resposta. Es decideix iniciar tractament substitutiu amb GGEV, amb milloria clínica.

Des de l'inici del tractament amb GGEV presenta bon estat general, més actiu, només algun quadre catarral afebril que no es complica ni necessita tractament antibiòtic. Canvi a GGSC. Al darrer control ecogràfic als 17 anys melsa de 11,9 cm, al límit alt de la normalitat.

## **P17**

Pacient de sexe masculí, caucàsic, sense antecedents de consanguinitat, àvia materna hipotiroïdisme, avi patern càncer testicular, besavis materns càncer d'estómac, càncer de pulmó i leucèmia.

Presenta varicel·la greu als 18 mesos de vida i bronquitis recurrents fins als 3 anys d'edat. Retard del creixement des dels 3-4 anys d'edat. Als 4 anys i 7 mesos, en un altre centre, es diagnostica de limfoma de Burkitt abdominal, estadi 4 amb metàstasi hepàtiques i disseminació a sistema nerviós central. Es realitza tractament quimioteràpic (LMB89 grup 3, COPADM-CYVE i quimioteràpia intratecal) associant-se radiació craniospinal. A l'inici de la quimioteràpia presenta infecció local per virus herpes zòster.

Durant el seguiment s'evidencien canvis persistents a nivell del cerebel que comporten derivació per avaluació al nostre centre. Es decideix realització de biòpsia estereotàctica que resulta amb anatomia patològica no neoplàsica. Durant aquesta avaluació es detecta hipogammaglobulinèmia remetent-se al nostre servei. Es realitza estudi immunològic diagnosticant-se d'IDCV als 6 anys d'edat i s'inicia tractament substitutiu amb GGEV.

Des dels 3-4 anys presenta una talla baixa que es diagnostica de deficiència d'hormona del creixement als 11 anys. El control endocrinològic mostra resultats normals de cortisol

sèric, TSH, T4, LH, FSH i testosterona. S'inicia tractament amb hormona del creixement. Al control als 4 mesos s'evidencien mínims canvis a les lesions cerebel·loses, suspent-se el tractament. Tot i parar el tractament, aquest canvis evolucionen fins a la formació d'un tumor nodular que es resseca als 13 anys d'edat amb estudi histològic diagnòstic de xantoastrocitoma pleomòrfic (OMS grau-2). No es realitza tractament adjuvant, i les restes tumorals postquirúrgiques es mantenen estables.

Des dels 7 anys d'edat presenta clínica d'asma bronquial extrínseca i rinoconjuntivitis al·lèrgica estacional per al·lèrgia a gramínies. Es realitzen proves cutànies amb panel de pneumoal·lèrgens (àcars, *Alternaria*, *Cladosporium*, epitelis de gat i gos i pòl·lens: *Cupressus*, parietària, gramínies, *Olea* i *Salsola*) mostrant sensibilització a gramínies.

Als 15 anys d'edat es manté estable amb talla baixa. No presenta clínica infecciosa ni canvis en les imatges cerebel·loses, però persisteixen símptomes d'al·lèrgia a l'època de pol·linització de les gramínies realitzant tractament simptomàtic.

## **P18**

Pacient de sexe masculí, caucàsic, es desconeixen antecedents familiars.

Des dels 9 mesos de vida presenta èczemes rebent múltiples tractaments. Presenta xerosi i descamació lamel·lar de tronc i extremitats compatible amb ictiosi, es realitza estudi genètic per descartar ictiosi de Dorfman-Chanari, l'estudi del gen transglutaminasa 1 (*TGM1*) resulta negatiu.

Corba de creixement amb talla a -2 DE i pes < 3 % fins als 13 anys, després talla a la mitjana i pes al percentil 10-25%.

Als 13 anys d'edat es remet al nostre servei per estudi d'hipogammaglobulinèmia detectada en estudi de dolor abdominal recurrent que es resol després d'exèresi de quist d'úrac.

Es realitza estudi que mostra IgG i IgA disminuïdes, amb isoaglutinines negatives, presenta resposta vacunal a vacunes proteiques, de polisacàrids i víriques però els nivells disminueixen ràpidament. Es diagnostica d'IDCV.

En els seguiment des dels 13 anys presenta diversos episodis de sinusitis i bronquitis amb sobreinfeccions respiratòries que necessiten sovint tractament antibiòtic prolongat. En l'estudi al·lèrgològic no es detecten sensibilitzacions i en l'estudi de funció pulmonar mostra un patró obstructiu amb test broncodilatador positiu.

Des dels 2 anys presenta cefalàlgies ocasionals. A partir dels 14 anys presenta un augment de la freqüència i intensitat dels episodis, alguns s'acompanyen de nàusees i vòmits, parestèsies a extremitat superior dreta amb febrícula i malestar durant els següents 2-3 dies, aquest episodis milloren parcialment amb ibuprofè. Valorat per neurologia es confirma el diagnòstic de migranya.

Als 14 anys i 6 mesos per augment de la freqüència de les infeccions respiratòries, tenint en compte els episodis de migranya i l'astènia persistent que refereix, es decideix iniciar tractament substitutiu amb GGEV amb milloria clínica.

## **P19**

Pacient de sexe masculí, caucàsic, sense antecedents de consanguinitat ni antecedents familiars d'interès.

Ingrés neonatal per sospita clínica i analítica de sèpsia. Infecció de tracte urinari als 2 anys, amb ecografia normal. Infeccions pròpies de la infància, varicel·la sense complicacions als 15 mesos de vida, 1-2 episodis d'otitis a l'any des de l'any fins als 6 anys. Desenvolupament pondoestatural normal.

Debut diabètic al 4 anys d'edat, es remet a la nostra secció als 10 anys d'edat per detectar nivells baixos d'IgG i IgM. En el seguiment es constata normalització dels valors d'IgM, persistència en la disminució d'IgG associant-se descens d'IgA amb isoaglutinines negatives i defecte en la resposta vacunal (fa resposta però la perd), tant per vacunes proteiques com de polisacàrids.

Des dels 13 anys presenta clínica de rinoconjuntivitis de característiques al·lèrgiques a primavera. Es realitza estudi al·lèrgològic amb proves cutànies a pneumoal·lèrgens (àcars, *Alternaria*, *Cladosporium*, epitelis de gat i gos i pòl·lens: *Cupressus*, parietària, gramínies, *Olea* i *Salsola*) mostrant sensibilització a gramínies, olivera i àcars de la pols domèstica,

que es confirmen per IgE específica. Estudi de funció pulmonar dintre de la normalitat. Es pauta tractament simptomàtic amb antihistamínics i corticoides nasal durant la primavera.

Amb 15 anys segueix asimptomàtic des del punt de vista infecció, només algun quadre catarral.

## **P20**

Pacient de sexe masculí, amb antecedents de consanguinitat (besàvies paternes cosines germanes) i en els antecedents familiars el pare afecte d'asma bronquial extrínseca per àcars.

Pacient intervingut per fimosi i hèrnia umbilical als 5 anys d'edat i diagnosticat de dislèxia i trastorn per dèficit d'atenció amb hiperactivitat als 8 anys.

Als 5 mesos de vida es diagnostica d'al·lèrgia a proteïnes de llet de vaca i en l'estudi analític es detecten nivells baixos d'immunoglobulines que es normalitzen als 3 anys i mig de vida. Als 7 anys de vida es realitza prova d'exposició oral controlada a proteïnes de llet de vaca sent tolerant.

De l'any fins als 8 anys presenta bronquitis de repetició, es realitza estudi al·lèrgològic que resulta negatiu. Als 7 anys i 3 mesos presenta pneumònia que motiva repetir l'estudi immunològic detectant-se descens d'IgG i IgM, isoaglutinines negatives i manca de protecció front a pneumococ (havia estat vacunat amb la vacuna conjugada), s'administra vacuna antipneumocòccica de polisacàrids sense resposta i es diagnostica d'IDCV.

En el seguiment ha anat presentant 4-5 episodis d'infecció respiratòria (amigdalitis, sinusitis) a l'any, alguna intestinal, que motiven consulta al pediatre i rep tractament antibiòtic en la meitat dels processos. Analíticament ha mantingut sempre valors de cèl·lules T CD4 baixes (nivells entre 400-500/mm<sup>3</sup>) amb proliferació normal. Als 11 anys presenta resposta de protecció vacunal en front a tètanus i pneumococ (mesura per tècnica d'ELISA d'anticossos IgG), persisteixen IgG i IgM descendides (als 12 anys s'afegeix descens dels nivells d'IgA), amb isoaglutinines negatives i esplenomegàlia de 11,6 cm.

## P21

Pacient de sexe masculí, caucàsic, sense antecedents de consanguinitat, en els antecedents familiars destaca mare que als 31 anys d'edat arrel del diagnòstic de celiaquia del pacient, es realitza estudi detectant-se deficiència d'IgA (no es van determinar IgG ni IgM) i marcadors genètics per celiaquia positius, resta d'estudi negatiu, als mesos inicia pneumònies de repetició amb un ingrés a UCI, diagnosticant-se d'IDCV en tractament substitutiu amb GGEV des dels 38 anys. Germà menor amb deficiència d'IgA, susceptibilitat genètica per a malaltia celíaca amb DQB1\*0201 positiu i talla baixa. Pare mononèfric congènit. Cosí matern mort als 3 anys d'edat per meningitis pneumocòccica. Avi patern càncer de pròstata.

Des dels 3 anys d'edat presenta clínica de dolor abdominal acompanyat de diarrees i pal·lidesa, es realitza estudi diagnosticant-se de malaltia celíaca als 4 anys d'edat amb anticossos IgG antitransglutaminasa positius, HLA-DQ2 negatiu, BQB1\*0201 positiu i DQA1\*0501 negatiu i biòpsia intestinal Marsh 3b, instaurant-se tractament amb dieta exempta de gluten. En el diagnòstic es detecta dèficit d'IgA amb nivells normals d'IgG per a l'edat. Als 11 anys per decisió familiar es reintrodueix el gluten a la dieta sense presentar símptomes digestius. Als 12 anys es repeteix biòpsia duodenal mostrant a l'anatomia patològica una duodenitis aguda i crònica amb limfòcits intraepitelials (30 limfòcits/100 enteròcits) i component inflamatori a làmina pròpia. Conjuntament amb un augment d'anticossos IgG antitransglutaminasa s'aconsella reiniciar dieta sense gluten.

Des del punt de vista infecció ha presentat otitis de repetició des dels 2 anys de vida que motiven la col·locació de drenatges transtimpànics bilaterals als 4 anys d'edat amb milloria clínica. Posteriorment ha anat fent una otitis febril a l'any, fins als 9-10 anys. Presenta 4-5 episodis d'herpes labials a l'any.

Als 11 anys a control de celiaquia es detecta descens dels nivells d'IgA i IgG motiu pel que es remet per avaluar. Es completa estudi immunològic amb isoaglutinines positives, limfòcits T CD4 amb valors baixos, manca de protecció vacunal en front a tètanus (5 dosis) i pneumococ (4 dosis vacuna conjugada). Es revacuna de tètanus assolint valors



protectors però els perd en menys d'un any i amb vacuna antipneumocòccica 23-valent sense resposta. Es diagnostica d'IDCV. Presenta esplenomegàlia de 12,4 cm.

Als 15 anys es manté clínicament asimptomàtic des del punt de vista infecció i realitza dieta sense gluten per la celiaquia.

## **P22**

Pacient de sexe masculí, caucàsic, sense antecedents de consanguinitat i amb antecedent familiar d'avi matern mort per càncer de colon.

Als 6 anys i 9 mesos presenta AHAI corticoidedependent. Als 7 anys i 5 mesos evolució a síndrome d'Evans (s'afegeix plaquetopènia) es realitzen 2 tandes de tractament amb rituximab amb escassa milloria. Els pares rebutgen l'esplenectomia. Als 10 anys i 5 mesos, una vegada descartat ALPS, es diagnostica d'IDCV (un any després de segona tanda de rituximab i amb limfòcits B recuperats, isoaglutinines negatives i manca de resposta vacunal). S'instaura tractament amb micofenolat de mofetil i GGEV (els dos primers dies a 1 g/kg per controlar autoimmunitat i posteriorment a dosis substitutives).

Als 11 anys i 7 mesos presenta enteritis febril amb coprocultiu positiu a *Campylobacter* que es tracta amb ciprofloxacina, en l'anàlítica que es realitza es detecta PCR a CMV positiva. Als 2 mesos presenta aftes orals i limfadenopaties laterocervicals. El quadre progressa amb augment de la mida de la paròtide dreta, amb càrrega del CMV de 744 còpies en sang i >100.000 en saliva, s'inicia tractament amb valganciclovir oral durant 3 setmanes. No es suspèn per persistència clínica i analítica (2.761 còpies/mL) de la infecció, es revalua decidint-se ganciclovir intravenós (5 dies, 11 dosis), posteriorment ha continuat valganciclovir oral.

Als 12 anys i 4 mesos es realitza TACAR pulmonar per protocol IDCV on es detecten múltiples ganglis laterocervicals i supraclaviculars bilaterals, així com adenopaties mediastíniques. Múltiples nòduls pulmonars amb halo de menor densitat al voltant, LIE amb bronquièctasis i àrees parenquimatoses en vidre desllustrat. Esplenomegàlia a l'ecografia abdominal. Als 6 mesos (13 anys) per augment clínic dels ganglis laterocervicals, augment de la càrrega viral de CMV i ecografia informant

d'hepatoesplenomegàlia i adenopaties a l'arrel mesentèrica es repeteix TACAR toràcica que mostra un empitjorament de les imatges (augment del nombre i mida dels nòduls pulmonars i de les adenopaties). Es realitza rentada broncoalveolar on la cel·lularitat mostra inflamació crònica amb predomini limfocitari; negatiu per a cèl·lules malignes i cultius negatius. Es decideix biòpsia ganglionar que mostra hiperplàsia fol·licular limfoide, l'estudi immunohistoquímic mostra BCL-2 negativa, hibridació in situ per VEB negativa. Es diagnostica de pneumopatia alveolointersticial i bronquièctasis a lòbul inferior esquerre.

L'estudi genètic mostra mutació al gen *CLTA4* coincidint amb el diagnòstic de malaltia limfoproliferativa, i conjuntament amb el Servei d'Hematologia es decideix prova terapèutica amb rapamicina (2 mg/m<sup>2</sup>/dia). Als 4 mesos es realitza ecografia de control amb disminució de les adenopaties laterocervicals i de la hepatoesplenomegàlia.

## **P23**

Pacient de sexe masculí, caucàsic, sense antecedents familiars de consanguinitat. però amb antecedents d'autoimmunitat amb pare afecte d'artritis reumatoide HLA-B27+, així com tiet i tieta paternels amb la mateixa patologia.

A partir dels 2 anys presenta episodis repetits d'amigdalitis febril acompanyada d'esplenomegàlia que remet entre els quadres. Als 3 anys es realitza analítica on es detecten nivells d'IgG i IgM baixes i IgG per a CMV positiva. Persisteix adenoïditis i otitis, roncadors habituals, realitzant-se adenoïdectomia amb amigdalectomia parcial i col·locació de drenatges transtimpànics bilaterals.

Als 5 anys persisteixen les alteracions analítiques i es remet per valoració immunològica. L'estudi mostra disminució d'IgG i IgA amb normalització dels valors d'IgM, amb manca de resposta a la vacuna antipneumocòccica de polisacàrids, assolint nivells protectors per a tètanus però que perd en menys d'un any i isoaglutinines no valorables per pertànyer al grup sanguini AB, diagnosticant-se d'IDCV. Als 7 anys i 6 mesos d'edat presenta sinusitis aguda amb persistència de les alteracions analítiques i es decideix iniciar tractament substitutiu amb GGEV.

Als 12 anys d'edat, bona evolució, persisteix sense infeccions importants (només algun quadre catarral) i un correcte desenvolupament pondoestatural.

## **P24**

Pacient de sexe femení, caucàsica, sense antecedents familiars de consanguinitat, amb pare afecte de deficiència d'IgA, vitiligen, anèmia perniciosa, neuritis braquial, pneumònies de repetició i bronquièctasis, mare amb malaltia de Crohn, tiet patern aneurisma aòrtic, àvia materna càncer de mama, tieta materna càncer de cèrvix, avi matern amb múltiples aneurismes arterials (múltiples cirurgies) i germà menor sa.

Des dels 3 anys de vida presenta otitis supurades de repetició (cada 3-4 setmanes), endemés de rinorrea purulenta persistent, 2 episodis d'amigdalitis. Als 6 anys i 9 mesos es realitza adenoïdectomia amb reducció amigdalar i col·locació de drenatges transtimpànics bilaterals. Als 6 mesos perdut drenatge dret reiniciant otitis de repetició. Als 7 anys i 9 mesos en preoperatori per tornar a col·locar drenatges es detecta trombopènia. Al mes següent presenta episodis de dolor abdominal acompanyat de sagnat vaginal, a partir d'aleshores epistaxis freqüents sense associar rinitis. S'afegeix aparició d'hematomes, en presenta 5-6 de forma habitual, així com astènia habitual que s'accentua quan fa un sobreesforç. Es realitza estudi hematològic orientant-se com trombocitopènia autoimmunitària, no tributària de tractament (plaquetes entre 18.000 i 100.000/mm<sup>3</sup>). Durant l'estudi es detecta disminució dels nivells d'IgG i IgA motiu pel que es remet per estudi immunològic. Es comprova disminució d'IgG i IgA, isoaglutinines negatives, amb resposta a vacuna antitetànica i antipneumocòccica 23-valent que perd en menys d'un any. Es diagnostica d'IDCV. Presenta cada vegada epistaxis més freqüents i intenses, que no cedeixen amb mesures habituals i requereix consultar a urgències per realitzar taponament, endemés de reiniciar otitis (tot i drenatges) i astènia persistent, als 8 anys i 11 mesos es decideix iniciar tractament substitutiu amb GGEV amb milloria clínica i augment del recompte de plaquetes de 18.000-28.000 a 98.000/mm<sup>3</sup>.

Presenta limfadenopatia inguinal dreta intermitent que acostuma a augmentar de mida la setmana prèvia a infusió de GGEV. Als 9 anys d'edat es realitza TC toràcica on s'identifiquen limfadenopaties axil·lars esquerres patològiques, la major de 39 mm de

diàmetre major, resta estudi dintre de la normalitat. Es realitza estudi no identificant-se causa infecciosa, per persistència de les adenopaties (3 mesos) es decideix biòpsia ganglionar. En l'estudi d'anatomia patològica s'identifiquen ganglis limfàtics amb fol·licles secundaris hiperplàstics, amb un aprimament de la zona del mantell. En l'estudi immunohistoquímic s'observa una distribució de cèl·lules B CD20 i CD79a confinada principalment als fol·licles. Són positius a nivell de centres germinals CD10 i BCL-6. No s'identifica la sobreexpressió de l'oncoproteïna BCL-2. La tinció de cèl·lules dendrítiques fol·liculars ressalta mitjançant CD21 i CD23. Existeix una població de cèl·lules T CD3 i CD5 positives disposades sobretot a l'àrea interfol·licular. L'índex de proliferació cel·lular valorat per l'expressió nuclear de ki-67 és elevat, i destaca el patró de zonació en els centres germinals. Es realitza estudi d'hibridació in situ per la determinació de RNA del VEB sent negatiu. El diagnòstic final és d'hiperplàsia limfoide reactiva florida. Als 10 anys es realitza canvi a tractament amb GGSC.

## **P25**

Pacient de sexe masculí, pares marroquins consanguinis (cosins germans), sense altres antecedents familiars d'interès excepte dues tietes maternes mortes de lactants per causa no filiada.

Presenta al mes de vida conjuntivitis infecciosa i des dels 4 mesos de vida bronquitis de repetició. Als 10 mesos de vida presenta otitis mitjana tractada amb antibiòtic oral i concomitantment lesions ulceroses a extremitats inferiors que acaben necessitant tractament quirúrgic, als dies presenta gastroenteritis aguda i posteriorment ingressa per pneumònia amb vessament pleural rebent tractament amb antibiòtics intravenosos (cultius negatius). Va presentant episodis d'impetigen recurrents així com onicomadesi als 2 anys d'edat després d'infecció per enterovirus. Segona pneumònia als 18 mesos i 2 episodis més durant el segon any de vida. Es realitza estudi immunològic que evidencia disminució dels nivells d'IgG i IgM amb IgA elevada (que es normalitza en el seguiment), isoaglutinines negatives i manca de resposta a vacuna antitetànica, no protecció front a rubèola (1 dosi) ni pneumococ (no vacunat) diagnosticant-se d'IDCV i iniciant-se tractament substitutiu amb GGEV. Segueix presentant infeccions cutànies i pulmonars de

repetició per manca de regularitat en l'administració de GGEV. Als 5 anys a la TC pulmonar presenta bronquièctasis cilíndriques a lòbul inferior esquerre.

En el seguiment s'evidencia presència de diarrees intermitents, 1-3 dies per setmana, en diverses ocasions s'ha detectat giardiosi que es tracta desapareixent la clínica. Als 8 anys desenvolupament pondoestatural normal, no infeccions de repetició ni altres complicacions.

## **4.2 Resultats als objectius plantejats**

A continuació s'exposen els resultats corresponents als objectiu definits en els Objectius específics. En funció d'aquests els pacients es classifiquen en diferents grups, tal com s'explica a la metodologia.

A mode de breu recordatori, s'han dividit els pacients en 3 grups:

- **Grup 1:** pacients que en el seguiment han deixat de complir els criteris diagnòstics d'IDCV,
- **Grup 2:** pacients on s'han identificat mutacions que fan classificar-los com a no IDC, i
- **Grup 3:** pacients que compleixen criteris diagnòstics d'IDCV.

Els pacients del **Grup 2 i 3** s'han comparat a nivell estadístic i els del **Grup 3** s'han analitzat per separat en funció dels diferents objectius.

### **4.2.1 Resultats referents a l'Objectiu específic 1**

**Descriure de manera estructurada els pacients en quant a filiació, característiques a l'inici i en el moment del diagnòstic de la IDC:**

- 1) Definir paràmetres de filiació dels pacients: raça, sexe, consanguinitat, antecedents familiars**
- 2) Determinar les característiques dels pacients en relació a l'edat del primer símptoma, edat al diagnòstic, retard en el diagnòstic, concentració sèrica d'immunoglobulines,**

**resposta vacunal, presència d'isoaglutinines i inici del tractament substitutiu amb gammaglobulines.**

A continuació es mostren els resultats de les dades per pacient referents a filiació i edats al 1r símptoma, al diagnòstic i a l'estudi, el retard en el diagnòstic, així com els pacients en tractament amb gammaglobulines intravenoses o subcutànies (**Taula 4.1**). Les dades referents a valors d'immunoglobulines, resposta vacunal i isoaglutinines es mostren a la **Taula 4.3**.

Dels 25 pacients estudiats 6 (24%) són de sexe femení i 19 (76%) de sexe masculí. Quasi tots els pacients són caucàsics (23/25, 92%), excepte 2 (8%) que són d'origen Nord-africà. El pacient **P18** és adoptat, es coneix origen caucàsic dels progenitors desconeixent-se la resta d'antecedents familiars. Tots els pacients caucàsics són d'origen espanyol. Els 2 pacients no caucàsics són d'origen marroquí i es corresponen amb els pacients consanguinis.

Els antecedents familiars referits a les taules (**Taula 4.1** i **Taula 4.2**) són en 1r grau (pares i germans), en el resum clínic dels pacients els antecedents familiars estan ampliat fins a 2n-3r grau (tiets, avis i cosins). Dels 24 pacients analitzats en quan a antecedents familiars, 8 (33,3%) tenen antecedents de malaltia autoimmunitària, tots organoespecífica i un d'ells associa endemés citopènia. Referent als antecedents familiars d'immunodeficiència primària hi ha 6 pacients i tots pertanyen al **Grup 3**. En 2 dels pacients la mare està afectada d'IDCV i en un d'ells el germà presenta una deficiència d'IgA. Hi ha 3 pacients amb familiars amb deficiència d'IgA, un pacient amb 1 germà afecte, un altre amb 2 germans afectes i en el tercer és el pare. El 6è pacient té una germana afecte de dèficit d'IgM associat a CD4 disminuïts. Tots els familiars afectes presenten immunodeficiències per deficiència d'anticossos. Només 2 pacients presenten antecedents familiars de neoplàsies, sent una d'elles (**P03**) la pacient que ha desenvolupat un limfoma. Dels 6 pacients amb antecedents familiars d'al·lèrgia només 2 (**P16** i **P20**) han presentat clínica d'al·lèrgia.

**Taula 4.1:** Dades de afiliació i diagnòstic per pacient

	Sexe	Raça	Consanguinitat	AF-AI	AF-IDP	AF- Malignitat	AF- Al·lèrgia	Edat 1r síntoma	Edat al diagnòstic	Retard diagnòstic	Edat a l'estudi	GGEV/SC
P01	Masculí	Caucàsica	No					5,98	15,90	9,92	21,97	Si
P02	Femení	Caucàsica	No					9,33	14,43	5,10	22,78	Si
P03	Femení	Caucàsica	No			Si		11,88	15,88	4,00	19,74	Si
P04	Masculí	Caucàsica	No	OE	IDCV		Si	4,23	9,63	5,39	19,52	Si
P05	Masculí	Caucàsica	No	OE, CIT				6,00	13,64	7,64	19,03	Si
P06	Masculí	Caucàsica	No		Deficiència d'IgA			10,17	15,18	5,01	18,95	Si
P07	Femení	Caucàsica	No	OE	Deficiència d'IgA	Si	Si	2,00	7,81	5,81	18,14	Si
P08	Masculí	Caucàsica	No				Si	5,76	10,78	5,01	17,77	Si
P09	Femení	Caucàsica	No					1,00	9,18	8,18	16,91	Si
P10	Masculí	Caucàsica	No	OE			Si	1,42	6,88	5,46	17,18	No
P11	Masculí	Caucàsica	No					0,84	8,93	8,09	16,74	Si
P12	Masculí	Caucàsica	No	OE				2,89	6,59	3,70	17,08	No
P13	Femení	Nord-africà	Si					1,00	8,11	7,11	14,64	Si
P14	Masculí	Caucàsica	No		Si			5,04	11,52	6,48	13,42	No
P15	Masculí	Caucàsica	No	OE				1,00	5,76	4,76	13,34	Si
P16	Masculí	Caucàsica	No				Si	13,61	15,14	1,53	14,66	Si
P17	Masculí	Caucàsica	No					4,00	6,28	2,28	13,78	Si
P18	Masculí	Caucàsica	Desconegut	Desconegut	Desconegut	Desconegut	Desconegut	13,09	13,62	0,53	13,21	Si
P19	Masculí	Caucàsica	No					4,14	11,55	7,41	13,05	No
P20	Masculí	Caucàsica	No				Si	7,14	7,41	0,27	10,82	No
P21	Masculí	Caucàsica	No		IDCV, Deficiència d'IgA			4,01	12,51	8,50	12,42	No
P22	Masculí	Caucàsica	No					6,59	10,43	3,84	12,96	Si
P23	Masculí	Caucàsica	No	OE				2,08	6,34	4,26	8,05	Si
P24	Femení	Caucàsica	No	OE	Deficiència d'IgA			3,00	8,33	5,32	8,24	Si
P25	Masculí	Nord-africà	Si					0,84	2,60	1,76	3,53	Si

AF: antecedents familiars; AI: autoimmunitat; IDP: immunodeficiència primària; OE: organoespecífica; CIT: citopènia; totes les edats i el retard diagnòstic expressats en anys;  
GGEV/SC: tractament amb gammaglobulines intravenoses o subcutànies.

Tal com consta a metodologia s'han considerat símptomes d'IDCV, i per tant s'han utilitzat per establir la data d'inici de la clínica: les infeccions significatives, la malaltia autoimmunitària, l'enteropatia, la limfoprolifерació policlonal, la neoplàsia i l'afectació de l'estat general (retard del creixement). Es mostren les edats del primer símptoma, l'edat al diagnòstic, el retard en anys en el diagnòstic i l'edat en que s'ha realitzat l'estudi actual.

Reben tractament substitutiu amb gammaglobulina 19 (76,4 %) dels 25 pacients, els 3 (100 %) pacients del **Grup 2** i 16/21 (76,2 %) del **Grup 3**. Els pacients **P08**, **P16** i **P24** realitzen tractament amb gammaglobulina subcutània.

A la **Taula 4.2** s'analitzen els 25 pacients de l'estudi en quan a sexe, raça, edat de la realització de l'estudi i antecedents familiars, l'estudi estadístic s'ha realitzat entre els **Grup 2** i **3**. En cap de les variables analitzades es troben diferències significatives entre els grups.

**Taula 4.2:** Anàlisi de les dades de filiació dels pacients

Variables		Total pacients	Grup 1	Grup 2	Grup 3	p
<b>Sexe femení</b>	Nombre (%)	6/25 (24)	0/1 (0)	1/3 (33,3)	5/21 (23,8)	0,722
<b>Raça caucàsica</b>	Nombre (%)	23/25 (92)	1/1 (100)	2/3 (66,7)	20/21 (95,2)	0,094
<b>Edat a l'estudi (anys)</b>	Mediana (rang)	14,66 (3,53-22,78)	17,08	13,34 (12,96-14,64)	16,74 (3,53-22,78)	0,359
<b>A. familiars de:</b>	Nombre (%)					
- Consanguinitat		2/24 (8,3)	0/1 (0)	1/3 (33,3)	1/20 (5)	0,104
- Autoimmunitat		8/24 (33,3)	1/1 (100)	1/3 (33,3)	6/20 (30)	0,907
- Malignitat		2/24 (8,3)	0/1 (0)	0/3 (0)	2/20 (10)	0,567
- Al·lèrgia		6/24 (25)	0/1 (0)	0/3 (0)	6/20 (30)	0,270
- Immunodeficiència:		6/24 (25)	0/1 (0)	0/3 (0)	6/20 (30)	0,270
• Deficiència d'IgA					4/20 (20)	
• IDCV					2/20 (10)	
• Altres					1/20 (5)	



En les taules **Taula 4.3** i **4.4** es mostren les dades de laboratori dels 25 pacients, referents a l'anàlisi realitzada en el moment del diagnòstic d'IDCV. Tant per les immunoglobulines (IgG, IgA i IgM) com per les subclasses d'IgG es mostren els valors de laboratori expressats en mil·ligrams per litre i els valors estandarditzats/normalitzats. Del pacient **P17** no es disposen de subclasses d'IgG en el moment del diagnòstic. La resposta vacunal es va realitzar en 22 dels 25 pacients (88 %), els 3 pacients on no es va realitzar tenien isoaglutinines negatives. Les isoaglutinines es realitzaren en 23 dels 25 pacients (92 %) sent no avaluable en 2 d'ells per pertànyer al grup sanguini AB.

A la **Taula 4.5** es mostra la comparativa dels resultats dels pacients en funció de l'edat del primer símptoma, edat al diagnòstic, retard en el diagnòstic, valors d'immunoglobulines, resposta vacunal i isoaglutinines. L'estudi estadístic s'ha realitzat entre el **Grup 2** i **3**.

**Taula 4.3:** Immunoglobulines, resposta vacunal i isoaglutinines al diagnòstic

	IgG (mg/L)	IgA (mg/L)	IgM (mg/L)	IgG *	IgA *	IgM *	IgE (KU/L)	Resposta vacunal	Isoaglutinines
<b>P01</b>	2.335	9	665	-4,30	-3,21	-1,80	2	Negativa	No realitzada
<b>P02</b>	2.853	156	654	-4,02	-2,95	-1,81	<2	Negativa	Negatives
<b>P03</b>	6.565	253	98	-2,07	-2,78	-2,60	<2	No realitzada	Negatives
<b>P04</b>	5.050	64	185	-2,50	-2,89	-2,81	4	Negativa	No realitzada
<b>P05</b>	3.786	581	375	-3,53	-2,19	-2,21	29	Negativa	No avaluable
<b>P06</b>	5.820	309	57	-2,46	-2,68	-2,66	5	Positiva	Negatives
<b>P07</b>	5.550	64	668	-2,61	-2,72	-1,41	4	Negativa	Negatives
<b>P08</b>	983	109	94	-5,01	-3,03	-2,61	<2	Negativa	Negatives
<b>P09</b>	3.250	537	640	-3,19	-1,82	-1,77	<2	Negativa	Positives
<b>P10</b>	4.670	219	237	-3,11	-2,32	-2,55	28	Negativa	Negatives
<b>P11</b>	4.060	100	409	-2,88	-2,81	-2,30	<2	No realitzada	Negatives
<b>P12</b>	5.190	316	503	-2,81	-2,08	-1,85	49	Negativa	Positives
<b>P13</b>	1.835	175	55	-3,73	-2,64	-3,11	2	No realitzada	Negatives
<b>P14</b>	4.889	1.019	262	-2,95	-1,42	-2,37	4	Negativa	Positives
<b>P15</b>	7.940	62	1.700	-1,26	-2,73	1,31	<2	Positiva	Negatives
<b>P16</b>	5.284	118	534	-2,75	-3,02	-1,98	13	Negativa	Positives
<b>P17</b>	2.902	471	347	-4,11	-1,68	-2,26	18	Negativa	Positives
<b>P18</b>	4.418	632	291	-3,20	-2,10	-2,33	75	Negativa	Negatives
<b>P19</b>	4.857	670	547	-2,97	-2,04	-1,96	104	Negativa	Negatives
<b>P20</b>	5.059	690	394	-2,89	-1,12	-2,14	173	Negativa	Negatives
<b>P21</b>	5.241	9	821	-2,77	-3,21	-1,58	1	Negativa	Positives
<b>P22</b>	3.841	222	413	-3,50	-2,83	-2,15	11	Negativa	Negatives
<b>P23</b>	4.678	328	452	-3,10	-2,05	-1,98	2	Negativa	No avaluable
<b>P24</b>	4.313	163	286	-2,78	-2,66	-2,58	2	Negativa	Negatives
<b>P25</b>	1.974	1.765	61	-3,38	3,21	-3,03	<1	Negativa	Negatives

\* Valors de les immunoglobulines normalitzats.

**Taula 4.4:** Subclasses d'IgG al diagnòstic

	IgG <sub>1</sub> (mg/L)	IgG <sub>2</sub> (mg/L)	IgG <sub>3</sub> (mg/L)	IgG <sub>4</sub> (mg/L)	IgG <sub>1</sub> *	IgG <sub>2</sub> *	IgG <sub>3</sub> *	IgG <sub>4</sub> *
P01	1.600	602	313	11	-2,92	-2,36	-1,63	-2,05
P02	1.920	209	768	9	-2,78	-2,68	-0,38	-2,05
P03	3.196	3.000	270	84	-2,22	-0,46	-1,75	-1,92
P04	3.310	797	285	18	-2,37	-2,19	-1,60	-2,02
P05	2.673	209	325	8	-2,45	-2,68	-1,60	-2,06
P06	4.255	418	627	10	-1,76	-2,51	-0,77	-2,05
P07	5.150	433	379	84	-1,32	-2,51	-1,23	-1,84
P08	974	82	28	3	-3,61	-2,94	-2,36	-2,05
P09	2.240	559	202	16	-2,94	-2,44	-1,84	-2,03
P10	3.690	1.140	325	224	-2,18	-1,64	-1,40	-1,54
P11	3.070	1.070	45	14	-2,55	-1,73	-2,26	-1,99
P12	3.820	989	170	72	-2,11	-1,83	-1,88	-1,87
P13	1.680	229	232	42	-3,36	-2,76	-1,68	-1,93
P14	2.774	1.294	383	22	-2,65	-1,67	-1,30	-2,02
P15	7.670	199	120	18	0,52	-2,78	-2,03	-1,98
P16	4.780	300	156	47	-1,53	-2,60	-2,07	-1,99
P17	No realitzat	No realitzat	No realitzat	No realitzat				
P18	3.320	980	300	150	-2,17	-2,06	-1,67	-1,81
P19	2.987	881	124	114	-2,54	-2,10	-2,08	-1,84
P20	3.174	1.076	173	149	-2,49	-1,72	-1,87	-1,70
P21	3.250	199	590	29	-2,20	-2,68	-0,87	-2,02
P22	3.423	655	356	123	-2,31	-2,34	-1,39	-1,82
P23	3.360	479	78	32	-2,38	-2,46	-2,16	-1,95
P24	2.820	350	610	9	-2,69	-2,62	-0,51	-2,00
P25	1.821	336	424	13	-2,95	-2,32	-0,93	-1,99

\* Valors de les subclasses d'IgG normalitzats

**Taula 4.5:** Anàlisi de les característiques dels pacients al diagnòstic d'IDCV

Variables		Total pacients	Grup 1	Grup 2	Grup 3	p
<b>Sexe femení</b>	Nombre (%)	6/25 (24)	0/1 (0)	1/3 (33,3)	5/21 (23,8)	0,722
<b>Raça caucàsica</b>	Nombre (%)	23/25 (92)	1/1 (100)	2/3 (66,7)	20/21 (95,2)	0,094
<b>Edat al 1r símptoma (anys)</b>	Mediana (rang)	4,14 (0,84-13,61)	2,89	1,00 (1,00-6,59)	4,23 (0,84-13,61)	0,315
<b>Edat al diagnòstic (anys)</b>	Mediana (rang)	9,63 (2,60-15,90)	6,59	8,11 (5,76-10,43)	10,78 (2,60-15,90)	0,206
<b>Retard diagnòstic (anys)</b>	Mediana (rang)	5,10 (0,27-9,92)	3,70	4,76 (3,84-7,11)	5,32 (0,27-9,92)	0,694
<b>Defecte Ig:</b> 1. IgG + IgA 2. IgG + IgM 3. IgG + IgA + IgM	Nombre (%)	10/25 (40) 4/25 (16) 11/25 (44)	1/1 (100) 0/1 (0) 0/1 (0)	1/3 (33,3) 0/3 (0) 2/3 (66,7)	8/21 (38,1) 4/21 (19,1) 9/21 (42,8)	0,873 0,408 0,439
<b>IgG normalitzada</b>	Mediana (rang)	-2,97 (-5,01/-1,26)	-2,81	-3,50 (-3,73/-1,26)	-2,97 (-5,01/-2,07)	0,896
<b>IgA normalitzada</b>	Mediana (rang)	-2,66 (-3,21/3,21)	-2,08	-2,73 (-2,83/-2,64)	-2,66 (-3,21/3,21)	0,570
<b>IgM normalitzada</b>	Mediana (rang)	-2,21 (-3,10/1,31)	-1,85	-2,15 (-3,11/1,31)	-2,26 (-3,03/-1,41)	0,896
<b>IgG<sub>1</sub> normalitzada</b>	Mediana (rang)	-2,41 (-3,61/0,52)	-2,11	-2,31 (-3,36/0,52)	-2,47 (-3,61/-1,32)	0,715
<b>IgG<sub>2</sub> normalitzada</b>	Mediana (rang)	-2,40 (-2,94/-0,46)	-1,83	-2,76 (-2,78/-2,34)	-2,40 (-2,94/-0,46)	0,121
<b>IgG<sub>3</sub> normalitzada</b>	Mediana (rang)	-1,65 (-2,36/-0,38)	-1,88	-1,68 (-2,03/-1,38)	-1,62 (-2,36/-0,38)	0,715
<b>IgG<sub>4</sub> normalitzada</b>	Mediana (rang)	-1,99 (-2,06/-1,54)	-1,85	-1,93 (-1,98/-1,82)	-1,99 (-2,06/-1,54)	0,201
<b>Isoaglutinines:</b> • Negatives • Positives • Grup sanguini AB • No realitzada	N = pacients avaluables Nombre (%)	N = 21 15/21 (71,4) 6/21 (28,6) 2/25 2/25	N = 1 0/1 (0) 1/1 (100) 0/1 0/1	N = 3 3/3 (100) 0/3 (0) 0/3 0/3	N = 17 12/17 (70,6) 5/17 (29,4) 2/21 2/21	0,278
<b>Resposta vacunal:</b> • Negativa: • No resposta • Pèrdua < 1 any • Protectora • No realitzada	N = pacients avaluables Nombre (%)	N = 22 20/22 (90,9) 14/20 6/20 2/22 (9,1) 3/25	N = 1 1/1 (100) 1/1 0/1 0/1 (0) 0/1	N = 2 1/2 (50) 1/1 0/1 1/2 (50) 1/3	N = 19 18/19 (94,7) 12/18 6/18 1/19 (5,3) 2/21	0,040

La mediana de l'edat al primer símptoma del global de pacients és de 4,14 anys, de l'edat al diagnòstic d'IDCV és de 9,63 anys i el retard en el diagnòstic des del primer símptoma de 5,10 anys. En l'anàlisi estadística no es troben diferències significatives entre els grups 2 i 3 en aquestes variables, tot i que 2 dels pacients del **Grup 2** inicien la clínica a l'any d'edat i el 3r als 6 anys, i en canvi en el **Grup 3** l'inici de la clínica es pot demorar fins als 13 anys d'edat.

En quan a quines de les immunoglobulines es troben disminuïdes ( $< 2$  DE per a la seva edat) trobem que el 40 % dels pacients tenen disminució d'IgG i IgA, el 44 % de les 3 classes (IgG, IgA i IgM) i el restant 16% d'IgG i IgM, proporcions que es mantenen en el **Grup 3** i en canvi en el **Grup 2** predominen els pacients amb afectació de les 3 classes d'immunoglobulines (2/3).

A l'analitzar les immunoglobulines (IgG, IgA i IgM) i les subclasses d'IgG (IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> i IgG<sub>4</sub>) al diagnòstic s'ha realitzat amb els valors normalitzats donat que els pacients s'han diagnosticat entre els 2 i els 15 anys i per tant els seus valors de referència en quan a mitjanes i rang de normalitat eren molt diferents i no comparables. No s'han trobat diferències estadísticament significatives entre el **Grup 2** i el **3** en aquestes variables.

Entre els 25 pacients estudiats, no hem trobat correlació entre l'edat al 1r símptoma i la determinació al diagnòstic de les immunoglobulines (IgG, IgA i IgM) ni amb el retard diagnòstic. Tampoc dels nivells al diagnòstic d'IgG amb l'edat al diagnòstic, ni el retard diagnòstic, ni entre el retard i l'edat de diagnòstic.

Tampoc hem trobat diferències significatives en els valors d'IgM estandarditzada en els pacients amb limfoproliferació policlonal ( $p$  0,082) o neoplàsies ( $p$  0,588) respecte els que no complien la condició.

Els resultats de l'estudi d'isoaglutinines mostra que el 71,4 % (15/21) dels pacients on s'han realitzat presenten resposta negativa. Dels 4 pacients restants, tots del **Grup 3**, 2 pertanyen al grup sanguini AB i per tant no són valorables però els 2 pacients presenten manca de resposta vacunal; els altres 2 pacients on no s'ha realitzat també presenten manca de resposta vacunal.

Referent a l'avaluació de la resposta vacunal al diagnòstic 20 dels 22 pacients (90,9 %) estudiats no van presentar resposta. En el **Grup 2** es van avaluar 2 dels 3 pacients i un pacient va presentar resposta protectora i l'altre no, el tercer pacient (**P13**) amb diarrea crònica no controlada, patologia pulmonar en estudi i valors d'IgG de 1.835 mg/L, es considerà no adequada l'administració de vacunes tant pels nivells d'IgG com per l'estat general. Dels 19 pacients avaluats del **Grup 3**: 18 (94,7%) no van tenir resposta i un (5,3%) sí, els 2 pacients no avaluats tenien isoaglutinines negatives.

#### **4.2.2 Resultat referents a l'Objectiu específic 2**

**Determinar les característiques clíniques dels pacients pediàtrics diagnosticats d'IDCV.**

##### **1) Descripció des les manifestacions clíniques associades a IDCV dels pacients, així com les relacionades amb els fenotips clínics publicats**

A la **Taula 4.6** es mostra la comparativa dels pacients, en global i per grups, segons els fenotips clínics descrits en el 2008 (7) i el 2012 (40), i segons les manifestacions clíniques presentades. Estadística realitzada entre el **Grup 2** i el **Grup 3**.

Els resultats referents als fenotips:

##### **Grup 1**

El pacient d'aquest grup ha presentat infeccions respiratòries de repetició, no altres complicacions associades a IDCV.

##### **Grup 2**

Es classifiquen els pacients d'aquest grup com si fossin IDCV, ja que durant anys han estat considerats com a tals i a fi de poder comparar amb els pacients del **Grup 3**.

Aquests 3 pacients agrupen 2 dels 4 limfomes descrits al grup global de 25 pacients. Un dels pacients correspondria al fenotip d'enteropatia inexplicable i endemés presenta un limfoma MALT pulmonar. Els altres 2 pacients pertanyen al fenotip d'infiltració limfocítica policlonal, un d'ells associa un limfoma MALT ganglionar i l'altre una citopènia autoimmunitària.

Així, segons la classificació del 2008 (7) en 5 fenotips tots 3 pacients dels **Grup 2** formarien part del grup minoritari que associa 2 fenotips. En aquest punt hi ha diferències estadísticament significatives respecte els pacients del **Grup 3** ( $p$  0,009) on el 23,8% dels pacients associen 2 fenotips respecte el 76,2% que només pertanyen a un fenotip.

### **Grup 3**

El formen els 21 pacients amb diagnòstic d'IDCV.

Segons la classificació del 2008 (7) en 5 fenotips hi ha: 8 (38,1 %) pacients sense complicacions, 12 (57,1 %) amb malalties autoimmunitàries, 3 (14,3 %) amb infiltració limfocítica policlonal, 1 (4,8 %) amb enteropatia inexplicable i 2 (9,5 %) amb limfomes. Utilitzant la classificació en 4 fenotips de 2012 (40) els pacients queden distribuïts: 15 (71,4 %) pacients sense complicacions (inclou: 1 pacient amb limfoma i malaltia autoimmunitària organoespecífica i 6 pacients amb autoimmunitat organoespecífica), 5 (23,8 %) pacients amb citopènies (1 d'ells amb un limfoma), 3 (14,3 %) pacients amb infiltració limfocítica policlonal (els 3 associen citopènies) i 1 (4,8 %) pacient amb enteropatia inexplicable.

Existeixen diferències estadísticament significatives ( $p$  0,037) en el **Grup 2** respecte el **Grup 3** en quan a limfoproliferació policlonal, presentant una afectació del 66,7 % respecte del 14,3 % tant en la classificació del 2008 (7) com en la del 2012 (40). En la classificació del 2008 (7) també existeixen diferències estadísticament significatives en quan a malignitat limfoide ( $p$  0,013) estant afectats un 66,7% dels pacients en el **Grup 2** respecte un 9,5% en el **Grup 3**. En la classificació del 2012 (40) també troben diferències estadísticament significatives en els pacients sense complicacions del **Grup 2** (0 %) respecte el **Grup 3** (71,4%) ( $p$  0.017).

Els resultats respecte les manifestacions clíniques mostren:

Han presentat infeccions significatives (70) tots els pacient dels **Grups 1 i 2**, i la majoria (71,4%) del **Grup 3**, no trobant-se diferències estadísticament significatives.

El pacient del **Grup 1** presenta infeccions significatives però no ha presentat cap altre manifestació clínica de les descrites (malaltia autoimmunitària, malaltia pulmonar crònica, hiperplàsia limfoide, malaltia al·lèrgica, malignitat ni retard del creixement).

En el **Grup 2** un dels pacients presenta citopènia (AHAI i PTI), sent el mateix pacient que presenta malaltia pulmonar crònica (bronquièctasis i LIP) i malaltia al·lèrgica (dermatitis atòpica). Els altres 2 pacients han presentat limfomes. Tots 3 pacients han presentat infeccions significatives, esplenomegàlia i retard del creixement.

Dels pacients del **Grup 3**, 12/21 (57,1 %) tenen malalties autoimmunitàries. D'aquests pacients 7 tenen malalties organoespecífiques, 3 citopènies i 2 ambdues. 4/12 (33,3 %) tenen 2 o més malalties autoimmunitàries. No es troben diferències significatives entre el **Grup 2** i **3**.

Referent a la malaltia pulmonar crònica 4 dels 21 (19%) pacients del **Grup 3** estan afectes, un presenta asma no al·lèrgica, un bronquièctasis i 2 LIP. Presenten malaltia al·lèrgica 4 dels 21 (19%) pacients del **Grup 3**. No es troben diferències estadísticament significatives en aquestes variables. Tampoc hem trobat diferències significatives ( $p$  0,317) en els valors d'IgM estandarditzada en els pacients amb bronquièctasis ( $N = 2$ , mediana -2,59 (-3,03/-2,15)) respecte els que no en presenten ( $N = 23$ , mediana -2,21 (-3,10/-1,31)).

En el **Grup 3**: 6 dels pacients (28,6 %) presenten hiperplàsia limfoide, 5 esplenomegàlia (23,8%) i 1 adenopaties persistents (4,8%), en front a 3 (100%), 3 (100%) i 2 (66,7%) del **Grup 2**, trobant-se diferències estadísticament significatives ( $p$  0,017, 0,011 i 0,002, respectivament). En l'anàlisi de malignitat com trobem 2 pacients amb limfoma a cada grup els resultats es corresponen a les diferències trobades en el fenotip de malignitat limfoide ( $p$  0,013). El retard del creixement està present en 7 dels 21 (33,3%) pacients del **Grup 3** amb una  $p$  de 0,028 respecte els 3 pacients (100%) afectes del **Grup 2**.



**Taula 4.6:** Comparativa segons fenotips i manifestacions clíniques

Variables		Total pacients	Grup 1	Grup 2	Grup 3	p
Fenotips						
Fenotips 2008: - Només infeccions - Autoimmunitat - Limfoproliferació p - Malignitat limfoide - Enteropatia	Nombre (%)	9/25 (36) 13/25 (52) 5/25 (20) 4/25 (16) 2/25 (8)	1/1 (100) 0/1 (0) 0/1 (0) 0/1 (0) 0/1 (0)	0/3 (0) 1/3 (33,3) 2/3 (66,7) 2/3 (66,7) 1/3 (33,3)	8/21 (38,1) 12/21 (57,1) 3/21 (14,3) 2/21 (9,5) 1/21 (4,8)	0,190 0,439 0,037 0,013 0,094
Fenotips 2012: - No complicacions - Citopènia - Limfoproliferació p - Enteropatia	Nombre (%)	16/25 (64) 6/25 (24) 5/25 (20) 2/25 (8)	1/1 (100) 0/1 (0) 0/1 (0) 0/1 (0)	0/3 (0) 1/3 (33,3) 2/3 (66,7) 1/3 (33,3)	15/21 (71,4) 5/21 (23,8) 3/21 (14,3) 1/21 (4,8)	0,017 0,722 0,037 0,094
Pertany: - 1 fenotip 2008 - 2 fenotips 2008	Nombre (%)	17/25 (68) 8/25 (32)	1/1 (100) 0/1 (0)	0/3 (0) 3/3 (100)	16/21 (76,2) 5/21 (23,8)	0,009
Pertany: - 1 fenotip 2012 - 2 fenotips 2012	Nombre (%)	21/25 (84) 4/25 (16)	1/1 (100) 0/1 (0)	2/3 (66,7) 1/3 (33,3)	18/21 (85,7) 3/21 (14,3)	0,408
Manifestacions clíniques						
Infeccions significatives	Nombre (%)	19/25 (76)	1/1 (100)	3/3 (100)	15/21 (71,4)	0,285
Autoimmunitat: - Citopènia - Organoespecífica - 1 malaltia AI - ≥ 2 malalties AI	Nombre (%)	13/25 (52) 6/25 (24) 9/25 (36)	0/1 (0) 0/1 (0) 0/1 (0)	1/3 (33,3) 1/3 (33,3) 0/3 (0) 0/1 (0) 1/1 (100)	12/21 (57,1) 5/21 (23,8) 9/21 (42,9) 8/12 (66,7) 4/12 (33,3)	0,439 0,722 0,151 0,188 0,188
Malaltia pulmonar crònica: - Asma - Bronquièctasi - LIP	Nombre (%)	5/25 (20) 1/25 (4) 2/25 (8) 3/25 (12)	0/1 (0) 0/1 (0) 0/1 (0) 0/1 (0)	1/3 (33,3) 0/3 (0) 1/3 (33,3) 1/3 (33,3)	4/21 (19) 1/21 (4,8) 1/21 (4,8) 2/21 (9,5)	0,569 0,699 0,094 0,243
Hiperplàsia limfoide: - Esplenomegàlia - Aden. persistents	Nombre (%)	9/25 (36) 8/25 (32) 3/25 (12)	0/1 (0) 0/1 (0) 0/1 (0)	3/3 (100) 3/3 (100) 2/3 (66,7)	6/21 (28,6) 5/21 (23,8) 1/21 (4,8)	0,017 0,011 0,002
Malaltia al·lèrgica	Nombre (%)	5/25 (20)	0/1 (0)	1/3 (33,3)	4/21 (19)	0,569
Malignitat	Nombre (%)	4/25 (16)	0/1 (0)	2/3 (66,7)	2/21 (9,5)	0,013
Retard del creixement	Nombre (%)	10/25 (40)	0/1 (0)	3/3 (100)	7/21 (33,3)	0,028

Limfoproliferació p: limfoproliferació policlonal; AI: autoimmunitàries; LIP: pneumònia intersticial limfocítica; Aden. persistents: adenopaties persistents.

En l'anàlisi dels pacients amb complicacions respecte els que no en tenen hem analitzat les següents variables: edat al primer símptoma, edat al diagnòstic d'IDCV, retard en el diagnòstic i valors d'immunoglobulines estandarditzades. Hem fet 3 anàlisis tenint en compte diferents definicions de complicacions: grup de només infeccions del 2008 (N = 8) respecte la resta (N = 16), el grup de no complicacions del 2012 (N = 15) respecte la resta (N = 9) i el grup de mal pronòstic 2 (N = 12) respecte la resta (N = 12). Només s'evidencia un menor retard diagnòstic en el grup de només infeccions ( $p$  0,007) sense diferències en les altres variables estudiades.

## **2) Descripció dels principals patrons clínics en relació a les malalties infeccioses patides pels pacients**

Resultats de la descripció dels pacients en relació a les malalties infeccioses:

### **Grup 1:**

Pacient afecte d'infeccions respiratòries de repetició: amigdalitis, sinusitis i bronquitis de característiques infeccioses que milloraven amb tractament antibiòtic oral. Així com una cel·lulitis orbitària als 2 anys i 8 mesos que necessità ingrés per realitzar tractament antibiòtic intravenós.

### **Grup 2:**

La pacient amb mutació a *LRBA* va presentar fins als 8 anys, al seu país d'origen, infeccions respiratòries descrites com bronquitis infeccioses, no requerint ingrés per aquest motiu. Una vegada iniciat tractament substitutiu va presentar 3 pneumònies i una infecció urinària.

El pacient amb mutació a *PIK3R1* presentava infeccions respiratòries de repetició sobretot otitis mitjanes supurades i conjuntivitis de difícil control tot i disposar de cultius amb aïllament de gèrmens i antibiograma.

El pacient amb mutació a *CTLA4* no presenta un increment de susceptibilitat a infeccions respiratòries però sí una parotiditis persistent per CMV.

Els 3 pacients han presentat infeccions per CMV de difícil control. En la primera pacient va ser un brot de colitis per CMV (en el context d'enteropatia) sense resposta a diversos tractaments que va requerir colectomia total, en el segon cas el pacient va presentar una mononucleosi per CMV, en l'evolució va presentar episodis d'adenitis cervical persistent (es va identificar VEB a biòpsies, no a sèrum) i va acabar desenvolupant un limfoma MALT ganglionar, i en el tercer pacient una parotiditis persistent per CMV amb poca resposta a antibiòtics orals i intravenosos, que en l'evolució presenta adenopaties persistents i afectació pulmonar amb diagnòstic d'infiltració limfocítica policlonal amb pneumònia intersticial limfocítica.

Els 3 pacients han necessitat tractament antibiòtic intravenós per al control de les seves infeccions.

### **Grup 3:**

El 71,4% dels pacients (15/21) han presentat infeccions de repetició significatives.

#### *Infeccions respiratòries:*

Deu pacients (47,6%) han presentat almenys 1 episodi de pneumònia, 6 d'ells (60%) 2 o més episodis i 8/21 (38 %) bronquitis infeccioses. Un dels pacients (**P04**) va presentar viratge tuberculínic en context de bronquitis de repetició rebent tractament amb hidrazides durant 6 mesos.

Han presentat infeccions respiratòries de vies altes 13 dels 21 pacients, sent les infeccions més freqüents: sinusitis en 10 pacients, otitis mitjanes en 9 i amigdalitis en 5 (un dels pacients (**P23**) associava esplenomegàlia als episodis d'amigdalitis). Van requerir tractament quirúrgic 6 pacients: 5 pacients es van sotmetre a adenoïdectomia i drenatges transtimpànics bilaterals (en 1 d'ells amb resolució de les infeccions després de la cirurgia) i un 6è pacient només col·locació de drenatges (resolent-se la clínica). Dels 5 primers, 3 van necessitar tornar a ser intervinguts: 1 per miringoplàstia, 1 per tornar a col·locar drenatges i el tercer va necessitar per segona vegada adenoïdectomia i drenatges, així com col·locació de drenatges en 2 ocasions més (en total 4 intervencions).

En la comparativa del **Grup 2** amb el **Grup 3** respecte a presentar pneumònia 2/3 i 10/21 o infecció pulmonar (pneumònia i/o bronquitis infecciosa no vírica) 2/3 i 12/21 no hi ha diferències estadísticament significatives amb  $p$  de 0,537 i 0,642, respectivament.

#### *Infeccions cutànies:*

Pel que fa a infeccions cutànies 2 pacients han presentat herpes zòster, un d'ells durant la quimioteràpia per limfoma (**P17**, no atribuïble a la IDCV i no presentant altres infeccions de repetició). Un pacient amb impetígens de repetició (**P25**).

#### *Infeccions digestives:*

Dos pacients amb giardiosi, un d'ells amb un episodi únic (**P02**) i l'altre amb varis episodis, en aquest darrer pacient en un altre episodi es va identificar un enterovirus. Un tercer pacient amb una salmonel·losi.

#### *Infeccions tracte urinari:*

Dos pacients (**P11** i **P19**) amb un únic episodi cada un, descartada alteració morfològica del tracte urinari.

#### *Malaltia invasiva:*

Cap dels pacients han presentat durant el seu seguiment o en els seus antecedents malaltia invasiva. Un pacient (**P19**) va presentar una sèpsia neonatal (sèpsia clínica i analítica amb cultius negatius), però no ha presentat altres infeccions significatives en la seva evolució, no considerant-se com a clínica atribuïble a la IDCV.

#### *Varicel·la:*

15/21 (71,4%) pacients han passat la varicel·la, en dos d'ells descrita com a molt intensa (febre elevada i persistent i moltes lesions cutànies i mucoses) però sense complicacions. Cap dels pacients que han passat la varicel·la havien estat vacunats. Dels 6 pacients que no han passat la varicel·la: 2 han rebut la vacuna i 5 pacients (incloent 1 dels vacunats) realitzen tractament amb GGEV.

#### *Necessitat de tractament intravenós:*

Han necessitat tractament antibiòtic intravenós 7 dels 21 pacients (33,3%) per resoldre les infeccions.

Taula 4.7: Malalties infeccioses

	Infeccions significatives	ORL	Pulmonars	Cutànies	Digestives	Sinus.	OMA	Amig.	OFT	Nº pneum.	Bronq.	Altres	Antibiòtic iv	Varicel·la
P01	SI	No	Si	No	No					20	x		Si	No
P02	SI	Si	Si	No	Si	x				1		Pansinusitis crònica, Giardiosi	Si	No
P03	NO													Si
P04	SI	Si	Si	No	No	x	x			0	x			Si
P05	SI	Si	No	No	No	x	x			0				Si
P06	SI	Si	Si	No	No		x	x		2	x	Abscés periamigdalí	Si	Si
P07	SI	Si	Si	No	No	x	x			2	x		Si	Si
P08	NO													Si
P09	SI	Si	Si	No	Si		x			3	x	Salmonel·losi		No
P10	SI	No	Si	No	No					5				Si
P11	SI	Si	Si	Si	No	x	x			1		H. zòster	Si	Si
P12	SI	Si	Si	Si	No	x		x		0	x	Cel·lulitis orbitària	Si	Si
P13	SI	No	Si	No	SI					3	x	Colitis x CMV	Si	No
P14	NO													Si
P15	SI	Si	Si	Si	No		x	x	x	5		Mononucleosi x CMV, parotiditis, otomastoiditis, cel·lulitis orbitària	Si	Si
P16	SI	Si	Si	No	No	x		x		1				Si
P17	NO													Si
P18	SI	Si	Si	No	No	x				0	x		Si	No, vacunat
P19	NO													Si
P20	SI	Si	Si	No	No	x		x		1	x			Si
P21	NO													No, vacunat
P22	SI	Si	No	No	Si					0		Parotiditis x CMV, <i>Campylobacter</i>	Si	Si
P23	SI	Si	No	No	No	x	x	x		0				Si
P24	SI	Si	No	No	No	x	x	x		0				Si
P25	SI	Si	Si	Si	Si		x		x	6	x	Giardiosi, enterovirus	Si	No

Sinus.: sinusitis; OMA: otitis mitjana aguda; Amig.: amigdalitis; OFT: conjuntivitis; Nº pneum.: nombre de pneumònies; Bronq.: bronquitis infeccioses.

### 3) Descripció en relació a les malalties autoimmunitàries

Resultats de la descripció dels pacients en relació a les malalties autoimmunitàries:

Es presenten les dades referents als 13 pacients amb malalties autoimmunitàries, 1 del **Grup 2** i 12 del **Grup 3**.

**Taula 4.8:** Pacients amb malalties autoimmunitàries i tipus

Pacient	Sexe	Antecedents familiars AI	Citopènia	AI-OE	Nº AI	En ordre de presentació:	Edat 1a AI (en anys)
<b>P01</b>	M	No	No	Si	1	Psoriasi	15,75
<b>P02</b>	F	No	Si	Si	3	Vitiligen, AHAI, PTI	9,33
<b>P03</b>	F	No	Si	No	1	AHAI	13,05
<b>P05</b>	M	Si	Si	No	1	PTI	13,18
<b>P07</b>	F	Si	Si	Si	2	PTI, psoriasi	13,29
<b>P09</b>	F	No	No	Si	3	Celiaquia, diabetis tipus 1, tiroïditis	2,15
<b>P10</b>	M	Si	No	Si	1	Celiaquia	1,42
<b>P11</b>	M	No	No	Si	7	Alopècia universal, tiroïditis, vitiligen, AIJ, síndrome seca, neuropatia i psoriasi	4,60
<b>P17</b>	M	No	No	Si	1	Deficiència hormona del creixement	11,01
<b>P19</b>	M	No	No	Si	1	Diabetis tipus 1	4,14
<b>P21</b>	M	No	No	Si	1	Celiaquia	4,01
<b>P22</b>	M	No	Si	No	2	AHAI, PTI	6,59
<b>P24</b>	F	Si	Si	No	1	PTI	7,84

M: masculí; F: femení; AI: malaltia autoimmunitària; AI-OE: malaltia autoimmunitària organoespecífica; AHAI: anèmia hemolítica autoimmunitària; PTI: púrpura trombocitopènica idiopàtica; AIJ: artritis idiopàtica juvenil.

Dels 13 pacients amb malaltia autoimmunitària 5 (38,5 %) són de sexe femení i en 4 (30,8%) hi ha antecedents familiars d'autoimmunitat. En quan al tipus de malaltia autoimmunitària 4 (30,8%) presenten citopènies, 7 (53,8%) malaltia organoespecífica i 2 (15,4 %) les dues. En 5 (38.5 %) dels 13 pacients la malaltia autoimmunitària és el 1r símptoma, en els altres 8 la malaltia infecciosa (en 7) i el limfoma (en 1) precedeixen la clínica autoimmunitària. La malaltia autoimmunitària és el primer símptoma en el 20 % dels pacients de la sèrie (5/25).

En els 12 pacients del **Grup 3** la relació de sexe femení/masculí és 5/7, 4/12 (33,3%) dels pacients tenen citopènies i 9/12 (75%) malaltia organoespecífica, tenint 2 d'ells ambdues patologies. Dels 12 pacients 8 (66,6 %) tenen una única malaltia autoimmunitària i 4 (33,3%) dues o més. Els 12 pacients agrupen un total de 23 malalties autoimmunitàries. La malaltia més freqüent és la PTI en 4 pacients, seguida de 3 pacients amb malaltia celíaca, 3 amb psoriasi, 2 casos de: AHAI, diabetis de tipus 1, vitiligen i tiroïditis i 1 de cada un dels següents: alopecía universal, AIJ, síndrome seca, neuropatia i dèficit d'hormona de creixement. Els 8 pacients que han presentat malalties organoespecífiques o aquesta ha estat la primera ho han fet a una mitjana d'edat de 6,55 anys i els 4 pacients que han presentat citopènies o ha estat la primera ho han fet als 11,84 anys.

La pacient **P09** ha presentat 3 malalties autoimmunitàries organoespecífiques, i als 17 anys s'afegeix una anèmia hemolítica que no es pot diagnosticar d'autoimmunitària segons els criteris descrits a la metodologia per presentar les proves d'antiglobulina indirecta i directa negatives.

A tots els pacients durant el seguiment es realitza cribratge de malalties autoimmunitàries i es determinen: marcadors de celiaquia IgA i/o IgG segons nivells de les immunoglobulines, ANA, TSH, T4 lliure, glucosa, VSG, transaminases i LDH. En funció de la clínica i els resultats analítics en alguns pacients es realitzen altres determinacions per assolir el diagnòstic o realitzar el seguiment de la seva patologia.

Dels 3 pacients amb celiaquia 2 presenten Ac IgA antiendomisi i/o antitransglutaminasa positius i el 3r amb nivells d'IgA de 9 mg/L presenta Ac IgG antitransglutaminasa positius. S'ha realitzat confirmació per biòpsia endoscòpica en els 3 pacients.

**Taula 4.9:** Estudis analítics en malalties autoimmunitàries

Pacient	IgA anti endomisi	IgA antiTG	IgG anti endomisi	IgG antiTG	ANA	TSH	T4 Lliure	Ac antiTPO	Ac anti tiroglobulina	TAD	TAI	Bilirubina	Hapt
P01	NR	NR	-	NR	-	normal	normal	NR	NR	NR	NR	NR	NR
P02	-	-	-	-	-	normal	normal	NR	NR	+	+	elevada	baixa
P03	NR	-	NR	NR	-	normal	normal	NR	NR	+	+	elevada	baixa
P05	-	-	NR	NR	-	normal	normal	NR	NR	+	-	elevada	baixa
P07	NR	NR	-	-	-	normal	normal	NR	NR	NR	NR	normal	NR
P09	+	-	NR	NR	-	elevada	normal	elevats	elevats	-	-	elevada	baixa
P10	+	+	NR	NR	-	normal	normal	NR	NR	NR	NR	normal	NR
P11	-	-	NR	-	-	elevada	normal	elevats	normal	NR	NR	normal	NR
P17	-	-	NR	NR	-	normal	normal	NR	NR	NR	NR	normal	NR
P19	-	-	NR	NR	-	normal	normal	normal	NR	NR	NR	NR	NR
P21	NR	NR	NR	+	+	normal	normal	NR	NR	NR	NR	NR	NR
P22	NR	-	NR	NR	-	normal	normal	NR	NR	+	+	elevada	baixa
P24	NR	-	NR	NR	-	normal	normal	NR	NR	+	-	NR	NR

Pacient	glucosa	HbA1c	IGF-I	IGFBP-3	Ac anti IA2	Ac anti GAD	VSG	ALAT	ASAT	LDH	Folat	Vitamina B12
P01	normal	NR	NR	NR	NR	NR	normal	normal	normal	NR	NR	NR
P02	normal	normal	NR	NR	NR	NR	normal	normal	normal	elevada	normal	normal
P03	normal	NR	normal	NR	NR	NR	normal	elevada	elevada	elevada	NR	NR
P05	normal	NR	NR	NR	NR	NR	normal	normal	normal	normal	normal	normal
P07	normal	NR	NR	NR	NR	NR	normal	normal	normal	normal	NR	NR
P09	elevada	elevada	normal	NR	elevats	elevats	normal	normal	normal	elevada	normal	normal
P10	normal	normal	normal	NR	NR	NR	normal	normal	normal	normal	normal	normal
P11	normal	normal	normal	NR	NR	NR	elevada	elevada	normal	elevada	normal	normal
P17	normal	NR	normal	normal	NR	NR	normal	normal	normal	normal	NR	NR
P19	elevada	elevada	baix	NR	elevats	normal	normal	normal	normal	normal	NR	NR
P21	normal	NR	NR	NR	NR	NR	normal	normal	normal	normal	normal	normal
P22	normal	NR	baix	normal	NR	NR	normal	normal	normal	elevada	normal	normal
P24	normal	NR	NR	NR	NR	NR	normal	normal	normal	normal	normal	normal

NR: no realitzat; +: positiu; -: negatiu; antiTG: antitransglutaminasa; ANA: anticossos antinuclears; TSH: hormona estimulant de la tiroide; T4: tiroxina; Ac: anticossos; TPO: peroxidasa tiroidal; TAD: test d'antiglobulina directa; TAI: test d'antiglobulina indirecta; Hapt: haptoglobina; HbA1c: hemoglobina glicosilada; IGF-I: factor de creixement similar a la insulina; IGFBP-3: proteïna 3 d'unió al factor de creixement similar a la insulina; IA2: tirosinafosfatasa 2; GAD: glutamat-descarboxilasa; VSG: velocitat de sedimentació globular; ASAT: aspartat-transaminasa; ALAT: alanina-transaminasa; LDH: lactat-desidrogenasa.



Només un dels pacients presenta ANA positius. Els 2 pacients amb tiroïditis presenten TSH elevada amb T4 lliure normal, Ac antitiroperoxidasa positius i un també els Ac antitiroglobulina.

Els 3 pacients amb AHAI presenten TAD i TAI positius amb bilirubina elevada i haptoglobina baixa.

Els 2 pacients amb diabetis mellitus de tipus 1 tenen glucosa i hemoglobina glicosilada elevades així com Ac anti IA2 positius, un d'ells també Ac anti-GAD positius.

El pacient **P17** amb deficiència d'hormona del creixement es diagnosticà amb test d'estimulació amb GH alterat, en el pacient **P11** també es realitzà test d'estimulació resultant normal.

Un dels pacients presenta VSG elevada (**P11**), així com ALAT elevada, un segons pacient amb ALAT elevada també té l'ASAT elevada (**P03**).

Les determinacions de folats i vitamina B12 s'han realitzat en 8 dels 13 pacients sent normals.

S'analitzen les diferents variables de l'estudi en funció de si els pacients amb immunodeficiència (**Grup 2** i **Grup 3**) presenten o no alguna malaltia autoimmunitària, també analitzant per separat els 21 pacients del **Grup 3**. Els resultats estadísticament significatius, entre d'altres, s'expressen a la **Taula 4.10**.

**Taula 4.10:** Comparativa entre pacients amb i sense malaltia autoimmunitària

Variables	N = 24	AI N = 13	No AI N = 11	p
<b>Sexe femení</b>	Nombre (%)	5/13 (38,5)	1/11 (9,1)	0,098
<b>LIP</b>	Nombre (%)	3/13 (23,1)	0/11 (0)	0,089
<b>Limfopènia B (absoluts)</b>	Nombre (%)	8/13 (61,5)	2/11 (18,2)	0,032
<b>Limfopènia T CD4 (absoluts)</b>	Nombre (%)	4/13 (30,8)	4/11 (36,4)	0,772
<b>Limfòcits CD21<sup>lo</sup> &gt;10%</b>	Nombre (%)	8/13 (61,5)	1/10 (10)	0,012
Variables	N = 21	AI N = 12	No AI N = 9	p
<b>Sexe femení</b>	Nombre (%)	5/12 (41,7)	0/9 (0)	0,027
<b>LIP</b>	Nombre (%)	2/12 (16,7)	0/9 (0)	0,198
<b>Neoplàsia</b>	Nombre (%)	2/12 (16,7)	0/9 (0)	0,198
<b>1 Fenotip/2 fenotips 2008</b>	Nombre (%)	7/12 (58,3)	9/9 (100)	0,027
<b>Retard diagnòstic (anys)</b>	Mediana (rang)	6,61 (2,28-9,92)	4,26 (0,27-6,48)	0,007
<b>IgM normalitzada</b>	Mediana (rang)	-2,09 (-2,60/-1,41)	-2,37 (-3,03/-1,98)	0,033
<b>IgA disminuïda</b>	Nombre (%)	11/12 (91,7)	6/9 (66,7)	0,149
<b>Limfopènia (absoluts)</b>	Nombre (%)	6/12 (50)	1/9 (11,1)	0,061
<b>Limfopènia B (absoluts)</b>	Nombre (%)	7/12 (58,3)	1/9 (11,1)	0,027
<b>Limfopènia T CD4 (%)</b>	Nombre (%)	0/12 (0)	4/9 (44,4)	0,010
<b>Limfòcits CD21<sup>lo</sup> &gt;10%</b>	Nombre (%)	7/12 (58,3)	0/9 (0)	0,005
<b>SmB21<sup>lo</sup> /resta</b>	Nombre (%)	7/12 (58,3)	0/9 (0)	0,005
<b>Tr<sup>hi</sup> /resta</b>	Nombre (%)	0/12 (0)	2/9 (22,2)	0,086

AI: malaltia autoimmunitària; LIP: pneumònia intersticial limfocítica.

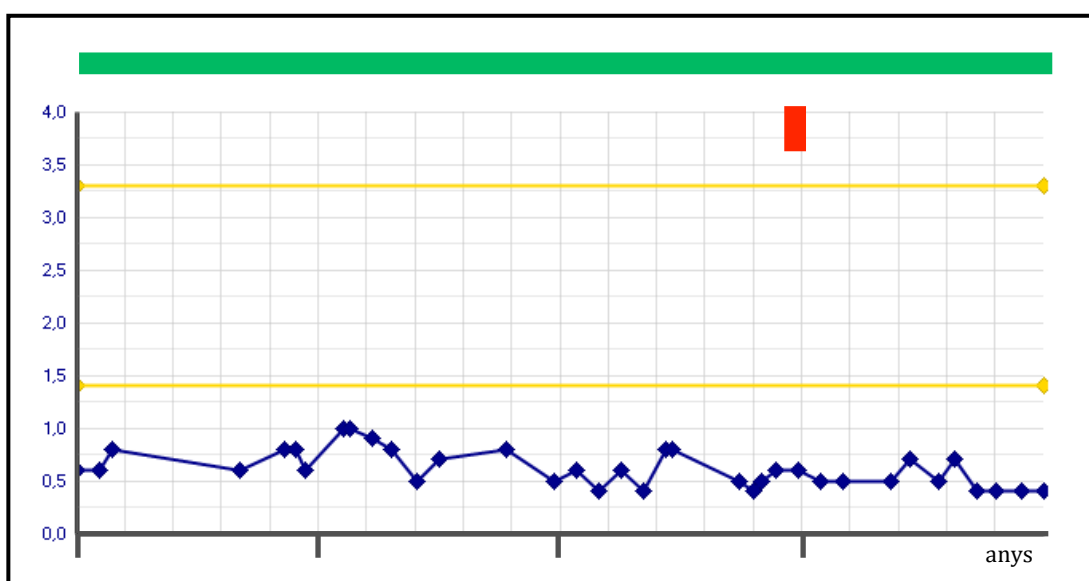
En el grup de pacients amb malaltia autoimmunitària i IDCV hi ha un clar predomini del sexe femení ( $p$  0,027), major retard diagnòstic ( $p$  0,007) i IgM més elevades ( $p$  0,033). Els pacients amb malaltia autoimmunitària presenten major percentatge de pacients amb IgA disminuïda, neoplàsia i pneumònia intersticial limfocítica que els que no tenen malaltia autoimmunitària. Els pacients sense malaltia autoimmunitària presenten un únic fenotip de la classificació del 2008 ( $p$  0,027) i limfopènia T CD4 ( $p$  0,010).

En l'anàlisi dels pacients amb citopènia ( $n = 6$ ) respecte a presentar malaltia autoimmunitària organoespecífica ( $N = 9$ ) no trobem diferències entre l'edat al diagnòstic ( $p 0,450$ ), el retard en el diagnòstic ( $p 0,137$ ) ni en els valors estandarditzats de les immunoglobulines, però sí una tendència a major edat en el primer símptoma en el grup amb citopènia (mediana de 6,29 anys respecte 4,00 anys,  $p 0,059$ ).

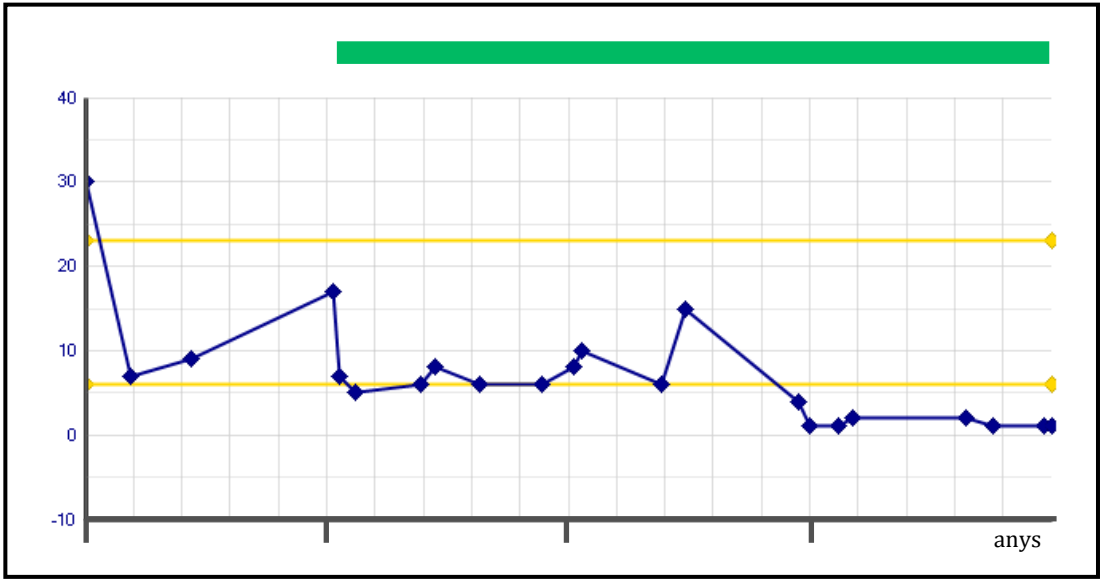
Els pacients **P02**, **P03** i **P22** han rebut tractament amb rituximab per al control de la seva malaltia autoimmunitària (**P03**: AHAI i síndrome d'Evans els altres 2 pacients). A continuació es mostren les gràfiques evolutives dels nivells de limfòcits absoluts, limfòcits B i immunoglobulines (IgA, IgG i IgM) en relació a l'administració d'aquest tractament.

Per a totes les figures d'evolució de valors en el temps: a l'eix d'abscisses es mostra el temps en anys (el temps entre dues separacions verticals grises és un any), en l'eix d'ordenades hi ha els valors dels limfòcits o immunoglobulines en funció del gràfic, l'espai entre les dues línies grogues marca els valors de normalitat per sexe i edat, la franja verda marca el tractament amb gammaglobulines, les franges vermelles marquen els tractaments amb rituximab i la línia blava de punts les determinacions de la variable analitzada al llarg del temps.

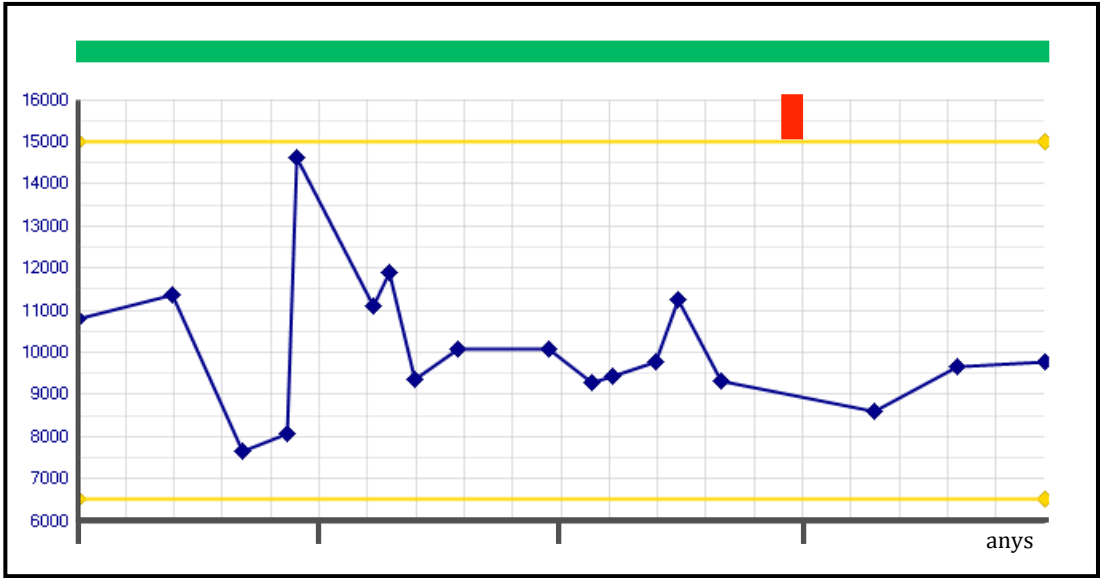
**Figura 4.1: P02:** Evolutiu del nombre de limfòcits absoluts (Mil/mmcc)



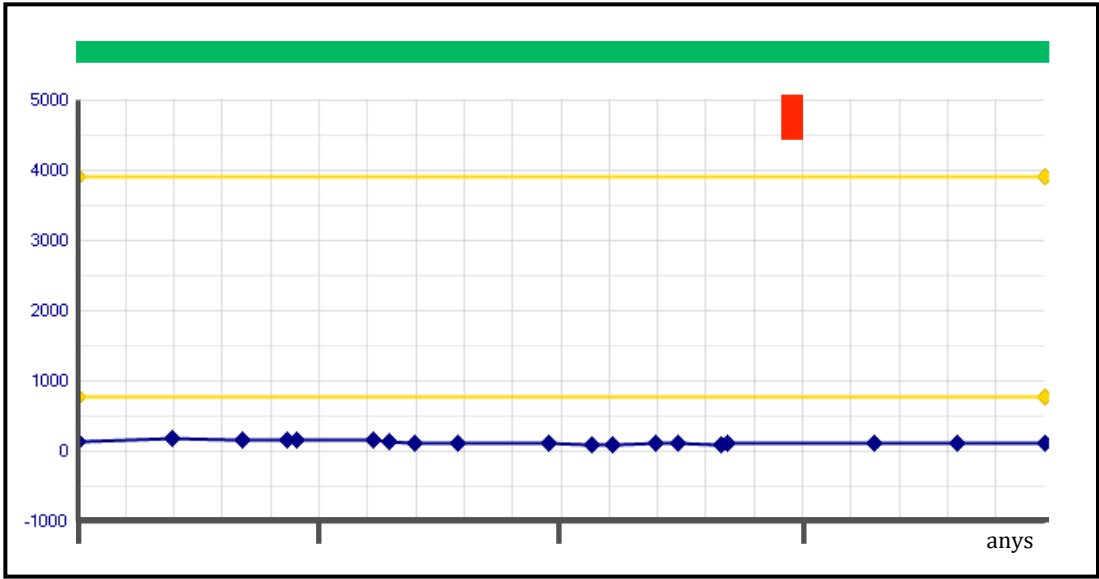
**Figura 4.2: P02:** Evolutiu del nombre de limfòcits B (%) durant 4 anys, la darrera determinació és 18 mesos abans del tractament amb rituximab



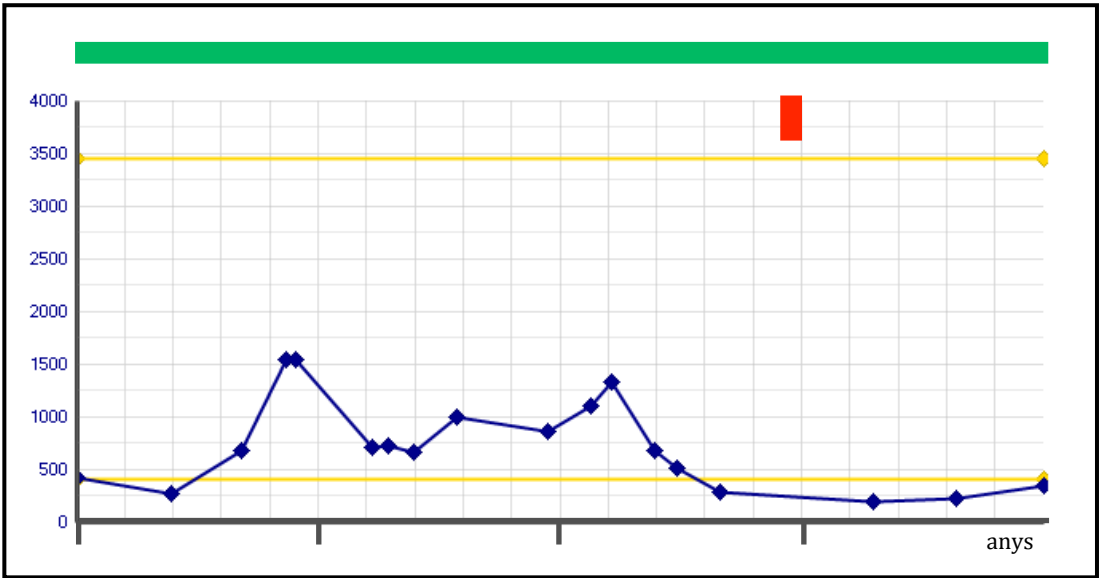
**Figura 4.3: P02:** Evolutiu de la Immunoglobulina G (mg/L)



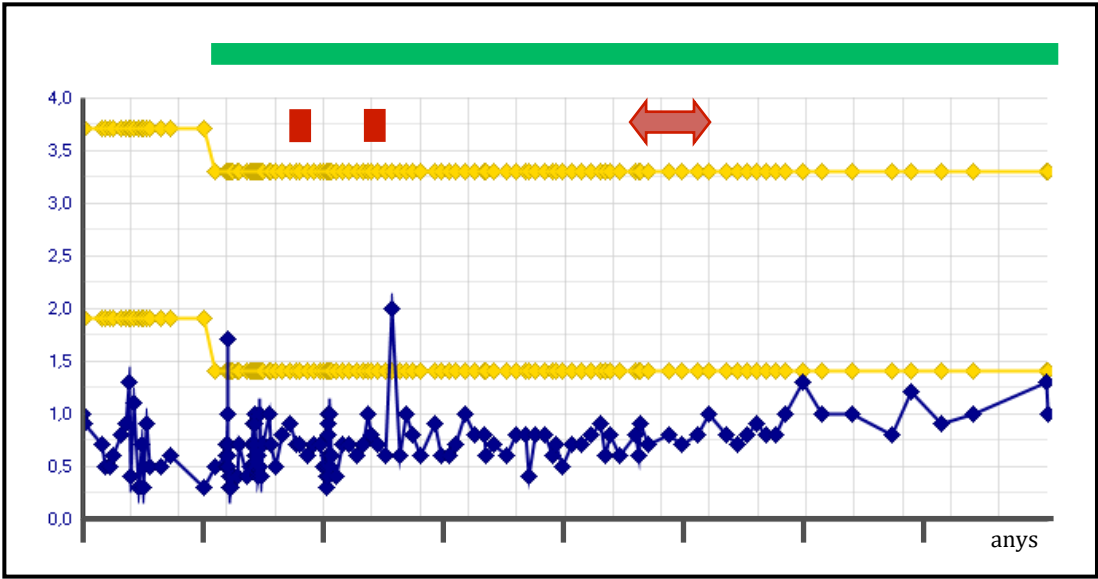
**Figura 4.4: P02:** Evolutiú de la Immunoglobulina A (mg/L)



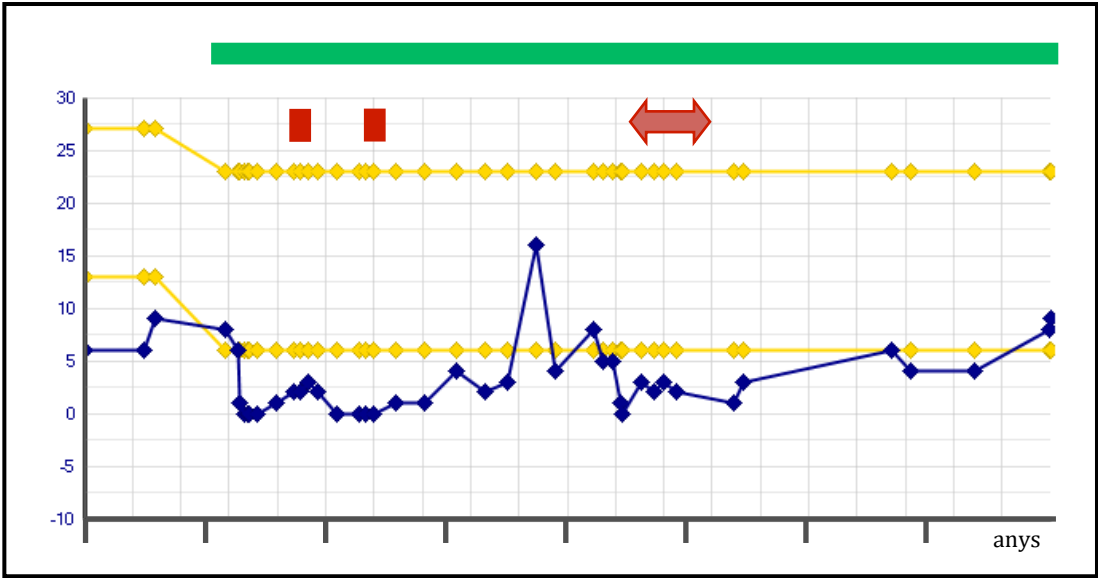
**Figura 4.5: P02:** Evolutiú de la Immunoglobulina M (mg/L)



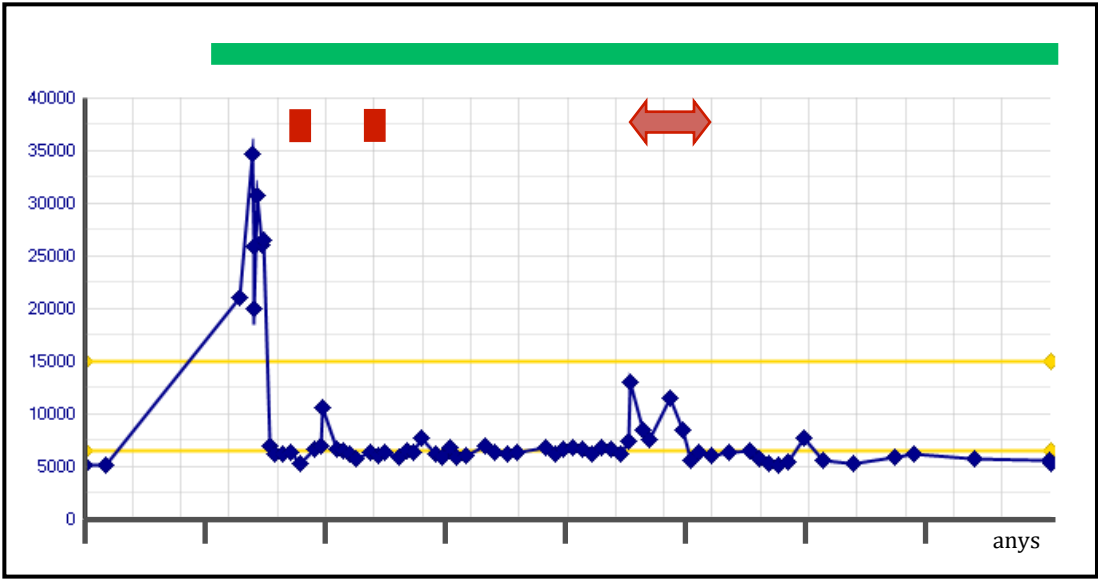
**Figura 4.6: P03:** Evolutiu del nombre de limfòcits absoluts (Mil/mmcc)



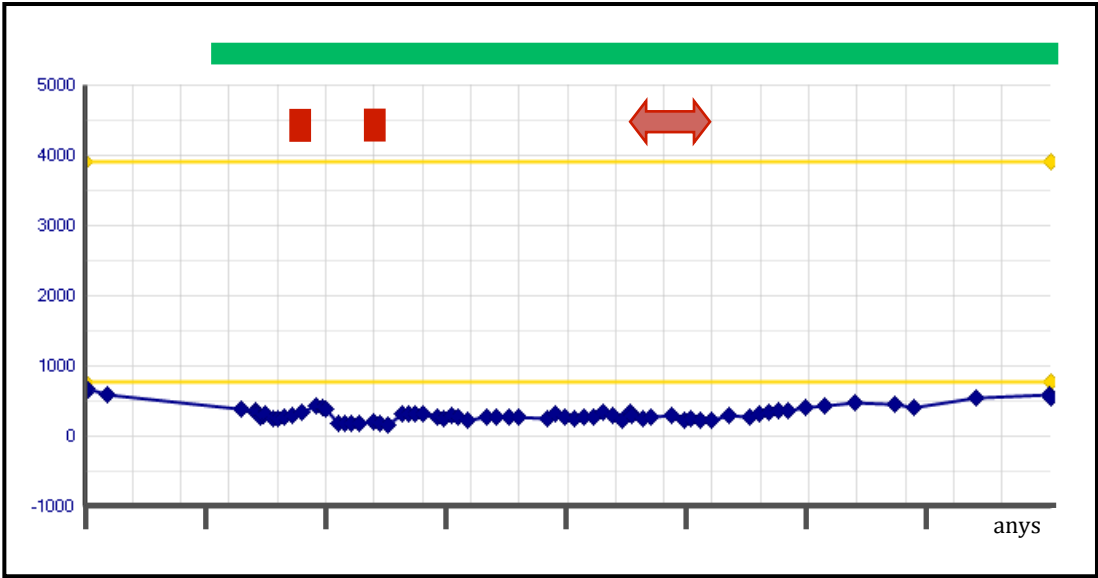
**Figura 4.7: P03:** Evolutiu del nombre de limfòcits B (%)



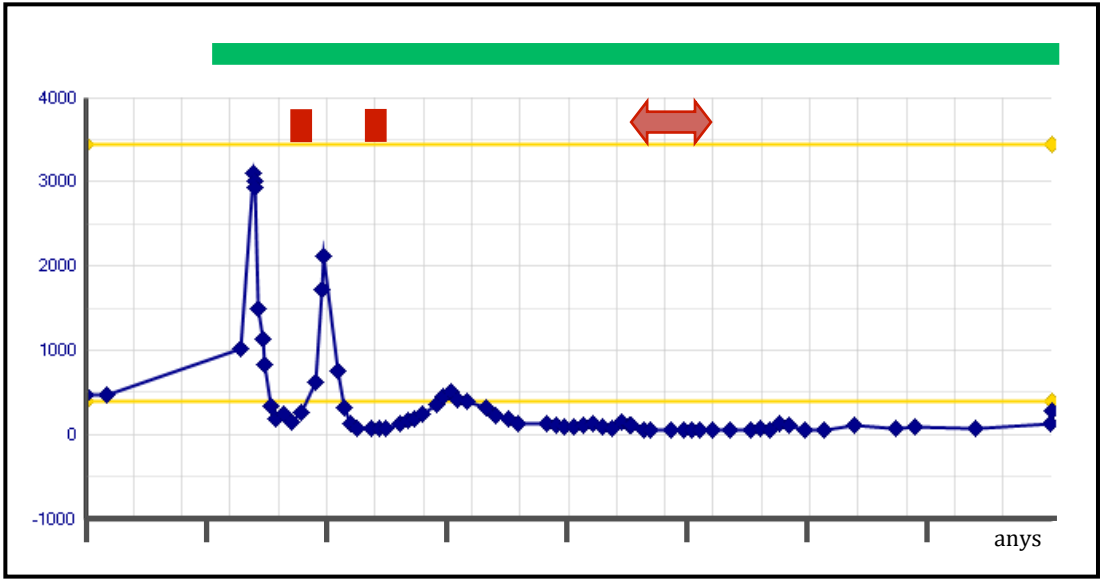
**Figura 4.8: P03:** Evolutiú de la Immunoglobulina G (mg/L)



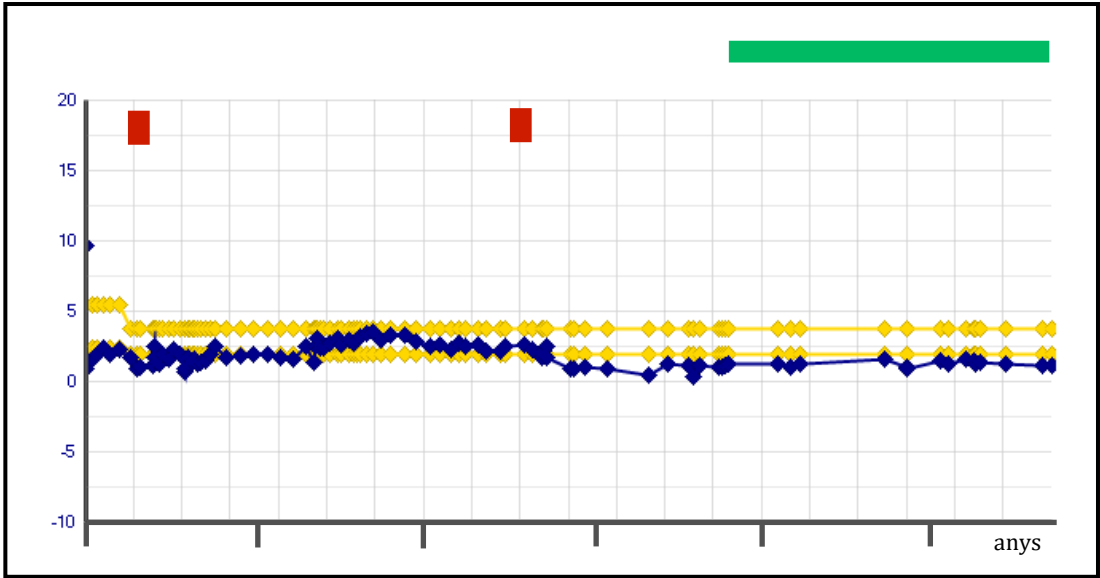
**Figura 4.9: P03:** Evolutiú de la Immunoglobulina A (mg/L)



**Figura 4.10: P03:** Evolutiú de la Immunoglobulina M (mg/L)

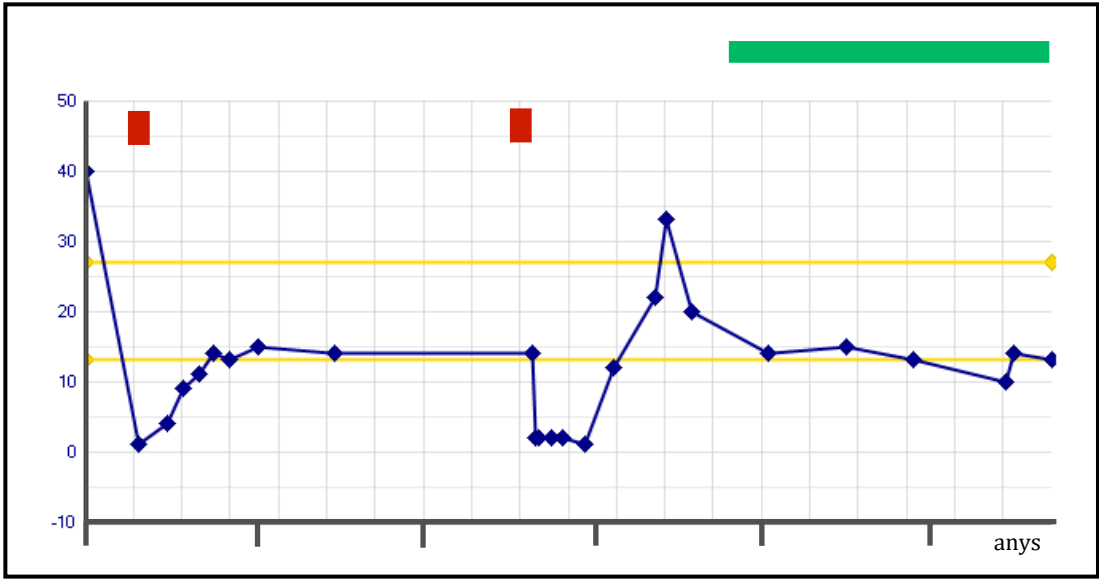


**Figura 4.11: P22:** Evolutiú del nombre de limfòcits absoluts (Mil/mmcc)

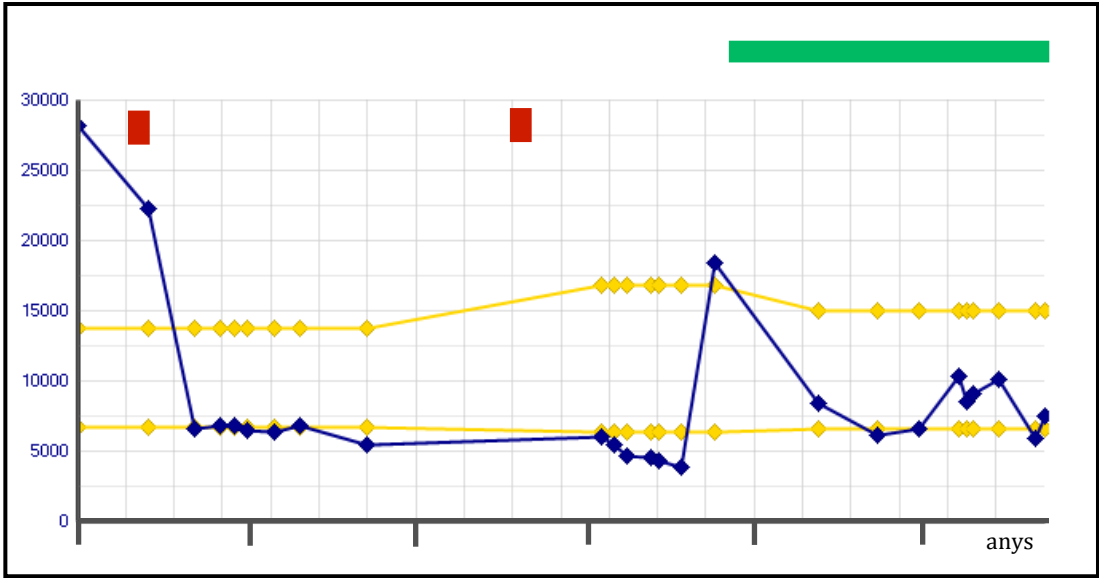




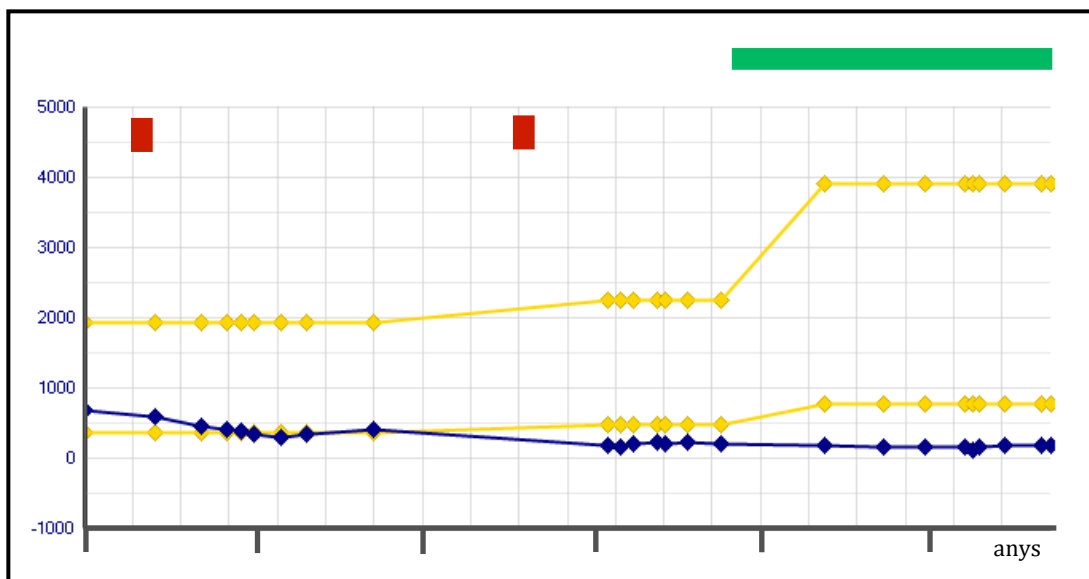
**Figura 4.12: P22:** Evolutiú del nombre de limfòcits B (%)



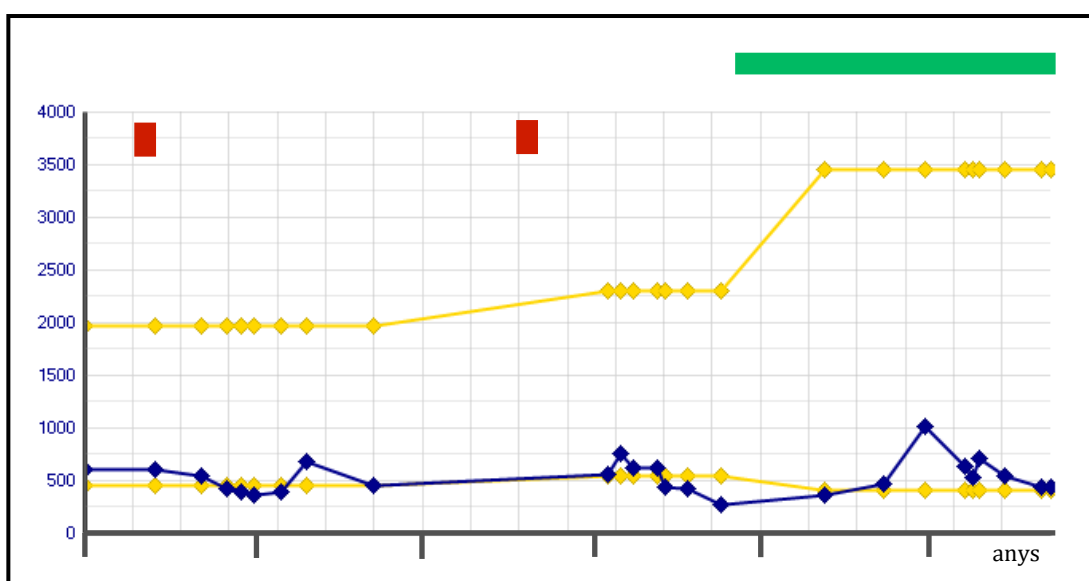
**Figura 4.13: P22:** Evolutiú de la Immunoglobulina G (mg/L)



**Figura 4.14: P22: Evolutiú de la Immunoglobulina A (mg/L)**



**Figura 4.15: P22: Evolutiú de la Immunoglobulina M (mg/L)**



#### 4) Descripció en relació a la limfoproliferació policlonal

Resultats de la descripció dels pacients en relació a la limfoproliferació policlonal:

Es descriuen els 5 pacients afectes de limfoproliferació policlonal (granuloma inexplicat, LIP (pneumònia intersticial limfocítica) i limfadenopatia persistent inexplicada), 2/3 dels **Grup 2** i 3/21 dels **Grup 3**.

Els 2 pacients del **Grup 2** són de sexe masculí i els 3 del **Grup 3** de sexe femení.

Cap dels pacients presenta granulomes. Els 2 pacients del **Grup 2** (**P15** i **P22**) presenten adenopaties persistents, així com una pacient del **Grup 3** (**P24**).

Un dels pacients del **Grup 2** (**P22**) presenta pneumònia intersticial limfocítica i dues de les pacients dels **Grup 3** (**P02** i **P07**).

Les 3 pacients del **Grup 3** han presentat infeccions de repetició i citopènies. Els pacients del **Grup 2** han presentat infeccions de repetició, el pacient **P22** també citopènia i el **P15** limfoma.

L'anàlisi comparativa entre els **Grups 2** i **3** respecte limfoproliferació policlonal i adenopaties persistents és estadísticament significativa ( $p$  0,037, 0,002, respectivament). Resultant no significativa respecte LIP ( $p$  0,243).

## **5) Descripció en relació a les malalties al·lèrgiques**

Resultats de la descripció dels pacients en relació a les malalties al·lèrgiques:

Un pacient en el **Grup 2** (**P22**) i 4 en el **Grup 3** han presentat malaltia al·lèrgica. Els 19 % dels pacients del **Grup 3** presenta malaltia al·lèrgica confirmada. Un 4.8 % (1/21) tenen dermatitis atòpica, un 4.8 % (1/21) al·lèrgia alimentària i un 9.5 % (2/21) al·lèrgia respiratòria.

Els pacients **P22** i **P16** presenten dermatitis atòpica.

El pacient **P20** afecte d'al·lèrgia alimentària a proteïnes de llet de vaca. Als 2 mesos de vida presenta urticària amb la presa de llet adaptada, es realitza estudi amb proves cutànies a llet de vaca, alfa-lactoalbúmina, beta-lactoglobulina i caseïna positives, i analítica amb IgE elevada (21 KUI/L) així com IgE específica a llet de vaca 5,36 KUI/L, alfa-lactoalbúmina 0,94 KUI/L, beta-lactoglobulina 1,85 KUI/L i caseïna 5,74 KUI/L. Realitza

dieta d'exclusió de proteïnes de llet de vaca, als 6 anys de vida amb proves cutànies positives a llet de vaca i negatives a resta de fraccions i analítica amb IgE normal (27 KUI/L), IgE específica a llet de vaca 0,90 KUI/L, alfa-lactoalbúmina i beta-lactoglobulina <0,35 KUI/L i caseïna 0,56 KUI/L, es realitza prova d'exposició controlada a proteïnes de llet de vaca sent tolerant. També als 6 anys es realitzen proves cutànies a bateria estàndard de pneumoal·lèrgens (*D.pteronyssinus*, *D.farinae*, *Alternaria*, *Cladosporium*, epitelis de gat i gos i pòl·lens: *Cupressus*, parietària, gramínies, *Olea* i *Salsola*) sent negatives.

Els pacients **P17** i **P19** estan afectes d'al·lèrgia respiratòria. El pacient **P17** presenta des dels 7 anys d'edat clínica d'asma bronquial extrínseca i rinoconjuntivitis al·lèrgica estacional (durant la primavera). Es realitza estudi amb proves cutànies a bateria estàndard de pneumoal·lèrgens sent positives a pòl·lens de gramínies i negatives per a la resta de pneumoal·lèrgens testats. Analítica amb IgE de 309 KUI/L, IgE específica a: poa de prat (*Poa pratensis*) de >100 KUI/L, alternària 0,03 KUI/L i *D.pteronyssinus* 0,03 KUI/L. Control de funció pulmonar amb espirometries dintre de paràmetres de normalitat, excepte la realitzada als 12 anys (primavera) amb mesofluxos alterats amb test broncodilatador amb augment >35 %. El pacient **P19** des dels 13 anys d'edat presenta clínica de rinoconjuntivitis al·lèrgica durant les primaveres. Es realitza estudi amb proves cutànies a bateria estàndard de pneumoal·lèrgens resultant positives a gramínies, olivera i àcars. Es realitza analítica amb IgE 181 KUI/L, IgE específica a: cua de rata (*Phleum pratense*) 28,10 KUI/L, olivera 16,80 KUI/L, plataner 0,03 KUI/L, *D.pteronyssinus* 4,03 KUI/L i *D.farinae* 6,26 KUI/L. Estudi de funció respiratòria dintre de la normalitat. Tos dos pacients realitzen tractament simptomàtic durant la primavera amb antihistamínics orals, corticoides nasals i salbutamol segons necessiten.

En altres 3 pacients del **Grup 3** la seva clínica ha conduït a realitzar estudis d'al·lèrgia. El pacient **P08** per un quadre de tos persistent es van realitzar proves cutànies a bateria estàndard de pneumoal·lèrgens sent negatives i estudi de funció pulmonar normal. El pacient **P12** per quadre de vòmits de lactant es sospità al·lèrgia a proteïnes de llet de vaca es van fer proves cutànies per a llet de vaca, alfa-lactoalbúmina, beta-lactoglobulina i caseïna negatives, així com prova d'exposició oral controlada a llet de vaca sent tolerant.

Finalment, el pacient **P18** per quadres de broncoespasme de repetició es realitzaren proves cutànies a bateria estàndard de pneumoal·lèrgens sent negatives i estudi de funció pulmonar amb patró obstructiu amb test broncodilatador positiu.

## **6) Descripció en relació a neoplàsies**

Resultats de la descripció dels pacients en relació a les neoplàsies:

Hi ha 4 pacients afectes de neoplàsia, 2 en el **Grup 2** i 2 en el **Grup 3**.

En els 2 pacients del **Grup 2** el debut de la clínica és molt precoç amb infeccions de repetició i enteropatia a l'any de vida, apareixent la neoplàsia 11 i 7 anys després del primer símptoma. Aquests 2 pacients presenten detecció de VEB+ per PCR al tumor. Els 2 pacients es van tractar amb rituximab amb remissió del tumor. El pacient **P15** ha presentat recurrència del limfoma MALT ganglionar als 17 anys, tumor de baix grau decidint-se conducta expectant.

Dels 2 pacients del **Grup 3**, la pacient **P03** ha presentat el limfoma com la primera manifestació de la IDCV als 11 anys, 2 anys més tard presenta AHAI i no és fins als 15 anys que s'estableix el diagnòstic d'immunodeficiència. Aquesta pacient presentava serologia positiva IgG a VEB prèvia a l'administració de GGEV, ni en l'estudi inicial del limfoma ni en les recurrències posteriors no s'ha detectat el VEB en el tumor ni per hibridació in situ ni per PCR. El pacient **P17** va iniciar amb estancament ponderal des dels 3 anys i el diagnòstic del limfoma de Burkitt es realitzà als 4 anys. No consta en l'estudi anatomopatològic del tumor la realització de detecció de VEB. La RM al diagnòstic mostrava canvis nodulars cerebel·losos interpretats com afectació del limfoma, sense canvis després del tractament que s'interpretaren com malaltia refractària tractant-se amb irradiació craniospinal. En l'avaluació posterior la biòpsia no era diagnòstica de NHL residual mostrant canvis inespecífics decidint-se control. Als 11 anys coincidint amb l'inici de tractament amb hormona del creixement es detecten mínims canvis a lesions cerebel·loses suspent-se el tractament. Els canvis evolucionen fins la formació d'un tumor nodular realitzant-se resecció als 13 anys d'edat. Es realitza el diagnòstic de xantoastrocitoma pleomòrfic.

**Taula 4.11:** Pacients amb neoplàsia

Pacient	P03	P13	P15	P17
<b>Sexe</b>	Femení	Femení	Masculí	Masculí
<b>Consanguinitat</b>	no	sí	no	no
<b>1r símptoma</b>	Limfoma (11 anys)	Diarrea crònica (1 any)	Infecció (1 any)	Retard creixement (4 anys)
<b>Diagnòstic IDCV (edat)</b>	15 anys	8 anys	5 anys	6 anys
<b>Infeccions</b>	no	sí	sí	no
<b>Adenopaties persistents</b>	no	no	sí	no
<b>Limfoproliferació policlonal</b>	no	no	sí	no
<b>Esplenomegàlia</b>	no	sí	sí	no
<b>Enteropatia</b>	no	sí	no	no
<b>LIP</b>	no	no	no	no
<b>Citopènia</b>	sí	no	no	no
<b>Malaltia AI-OE</b>	no	no	no	sí
<b>Limfoma:</b>				
Edat al diagnòstic	11 anys	8 anys	12 anys	4 anys
Tipus	NHL	NHL	NHL	NHL
Subtipus	MALT	MALT	MALT	Burkitt
Estadi	Estadi II	Estadi II	Estadi III	Estadi IV
VEB al tumor: - Híbridació in situ - PCR	- -	- +	+ +	desconegut desconegut
VEB al plasma	IgG VEB +	PCR + (sang sencera)	PCR –	IgM VEB -
Localització inicial	adenopatia inguinal	pulmonar	adenopatia cervical	difusa / abdominal
Tractament	CHOP	rituximab	rituximab	COPADM-CYVE, Rx
Evolució	Recurrència	Remissió	Recurrència	Remissió 2a neoplàsia*
2n Tractament	Rituximab		Sense tractament	Cirurgia
<b>Diagnòstic genètic (edat)</b>		LRBA (17 anys)	PIK3R1 (17 anys)	

LIP: pneumònia intersticial limfocítica; AI-OE: malaltia autoimmunitària organoespecífica; NHL: limfoma no-Hodgkin; MALT: teixit limfoide associat amb les mucoses; VEB: virus d'Epstein-Barr; COPADM: quimioteràpia amb ciclofosfamida, vincristina, prednisolona, doxorubicina, metotrexat; CYVE: citarabina, etopòsid; Rx: radioteràpia; CHOP: ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisona; \*: xantastrocitoma pleomòrfic.

Donada la possible influència del limfoma i del tractament amb rituximab en els nivells d'immunoglobulines s'han analitzat els pacients afectes de limfoma en relació al diagnòstic d'IDCV i en l'evolució de les immunoglobulines.

**P03** - Al diagnòstic del limfoma (11 anys) es detecta disminució d'IgG, IgM i IgA. No es disposaven de nivells previs. Dos anys després d'haver acabat el tractament del limfoma i coincidint amb el diagnòstic d'AHAI, la IgM presenta valors normals (1.015 mg/L (522-3.350)). Després del 2n cicle de rituximab per l'AHAI, els nivells d'IgM disminueixen i no tornen a assolir nivells normals per l'edat. Nivells d'immunoglobulines als tres anys d'haver acabat el tractament amb rituximab: IgG 5.235 mg/L (6.500-15.000), IgA 540 mg/L (760-3.900) i IgM 269 mg/L (400-3.450).

**P13** - Al diagnòstic d'IDCV presenta poblacions limfoides: limfòcits B 11%, limfòcits T 78%, limfòcits T CD4 68%, limfòcits T CD8 31%, cèl·lules NK 11%, proliferació limfoide normal per concanavalina A i PHA. IgG, IgA i IgM amb nivells disminuïts amb limfòcits B totals de  $165/\text{mm}^3$  (11% del total de limfòcits) previ a tractament amb rituximab. En el seguiment més enllà de 4 anys després del tractament amb rituximab no recupera els limfòcits B (0-2% del total de limfòcits) ni els nivells d'immunoglobulines (IgA <10 mg/L, IgM <50 mg/L). Es comprovà correcta expressió de CD40.

**P15** – El diagnòstic d'IDCV possible es realitzà als 5 anys d'edat amb IgG de 7.540 mg/L (6.630-13.700), IgA 62 mg/L (346-1.910), IgM 1.700 mg/L (446-1.960), IgG<sub>2</sub> 199 mg/L (720-3.400) i IgG<sub>3</sub> 120 mg/L (130-1.330), IgG<sub>1</sub> i IgG<sub>4</sub> a rang normalitat, resposta vacunal a tètanus conservada i isoaglutinines negatives. Als 13 anys d'edat es diagnostica el limfoma MALT va mantenir nivells d'IgM elevats/normals fins als 10 mesos després d'iniciar tractament amb rituximab. La síndrome d'HiperIgM es va descartar per la correcta expressió de CD40 i CD40L, i no es van trobar mutacions en els gens *AID*, *SH2D1A* ni *XIAP*.

**P17** - En el moment del diagnòstic del limfoma els nivells d'immunoglobulines eren: IgG 2.810 mg/L (4.780–13.100), IgA 220 mg/L (271–1.470), IgM 180 mg/L (398-1.860), IgE 12 KU/L (0–82). En el diagnòstic d'IDCV, 2 anys després del limfoma, el pacient havia normalitzat els valors d'IgA amb nivells descendits d'IgG i IgM i presentava una manca de

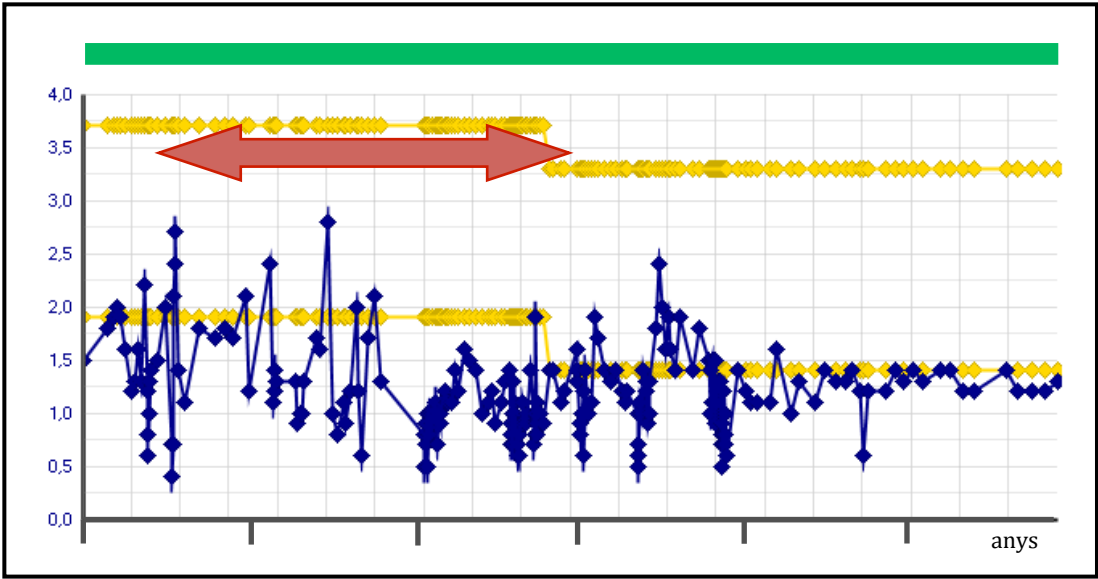
resposta vacunal. Set anys més tard, donada l'estabilitat clínica del pacient, i d'acord amb el pacient i la família, es decideix parar l'administració de GGEV per reavaluar el diagnòstic d'IDCV. L'avaluació dels nivells sèrics d'immunoglobulines confirma nivells disminuïts d'IgG i IgA (IgG 5.817 mg/L (6.500–15.000), IgA 692 mg/L (760–3.900), IgM 681 mg/L (400–3.450)) amb manca de protecció en front a xarampió i rubèola, i sense resposta vacunal, així com una ràpida pèrdua dels nivells d'IgG front a diftèria, tètanus i pneumococ en les successives analítiques. Es descarta alteració de *SAP* i *XIAP* per tinció intracel·lular i anàlisis per citometria de flux, així com de mutacions en l'anàlisi dels gens *SH2D1A* i *BIRC4*.

A continuació es mostren les gràfiques referents a l'evolució dels limfòcits totals, limfòcits B i immunoglobulines (IgA, IgG i IgM) respecte l'administració de rituximab en els 2 pacients que l'han rebut com a tractament pel seu limfoma (**P13** i **P15**).

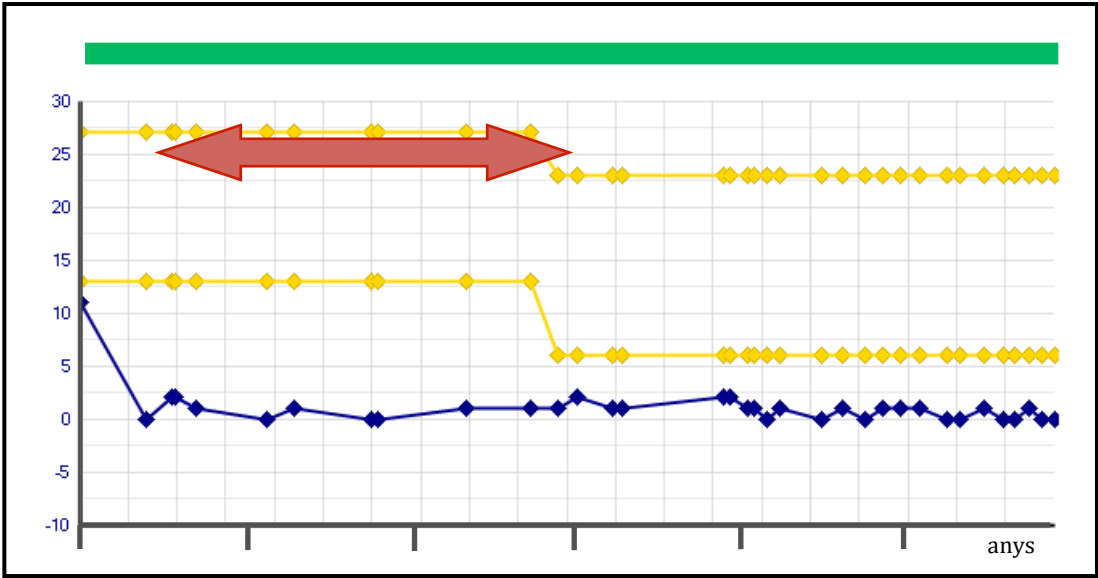
Per a totes les figures d'evolució de valors en el temps: a l'eix d'abscisses es mostra el temps en anys (el temps entre dues separacions verticals grises és un any), en l'eix d'ordenades hi ha els valors dels limfòcits o immunoglobulines en funció del gràfic, l'espai entre les dues línies grogues marca el valor de normalitat per sexe i edat, la franja verda marca el tractament amb gammaglobulines, les franges vermelles marquen els tractaments amb rituximab i la línia blava de punts les determinacions de la variable analitzada al llarg del temps.



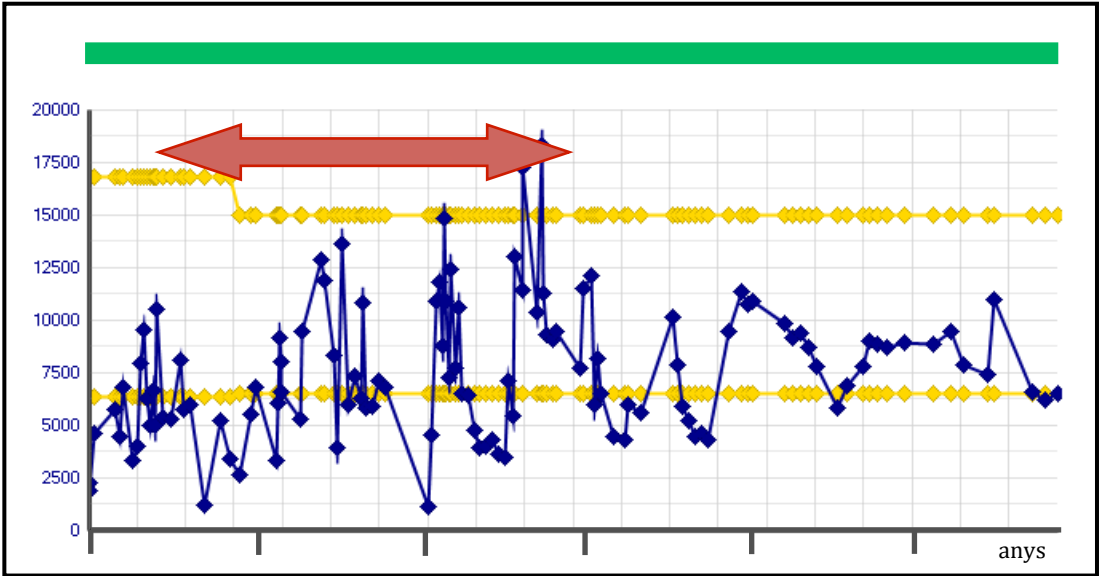
**Figura 4.16: P13:** Evolutiú del nombre de limfòcits absoluts (Mil/mmcc)



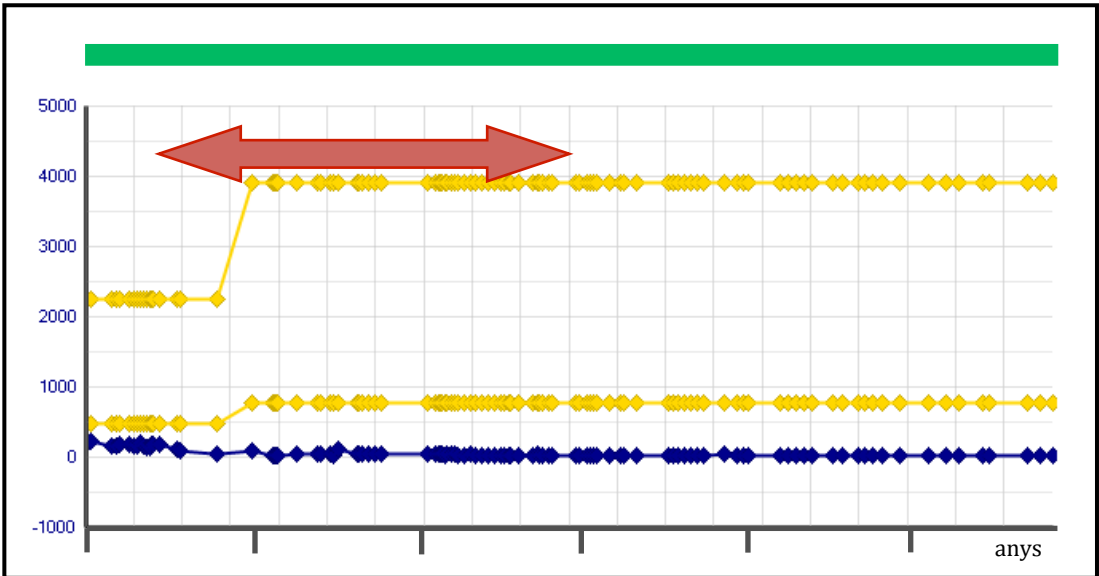
**Figura 4.17: P13:** Evolutiú del nombre de limfòcits B (%)



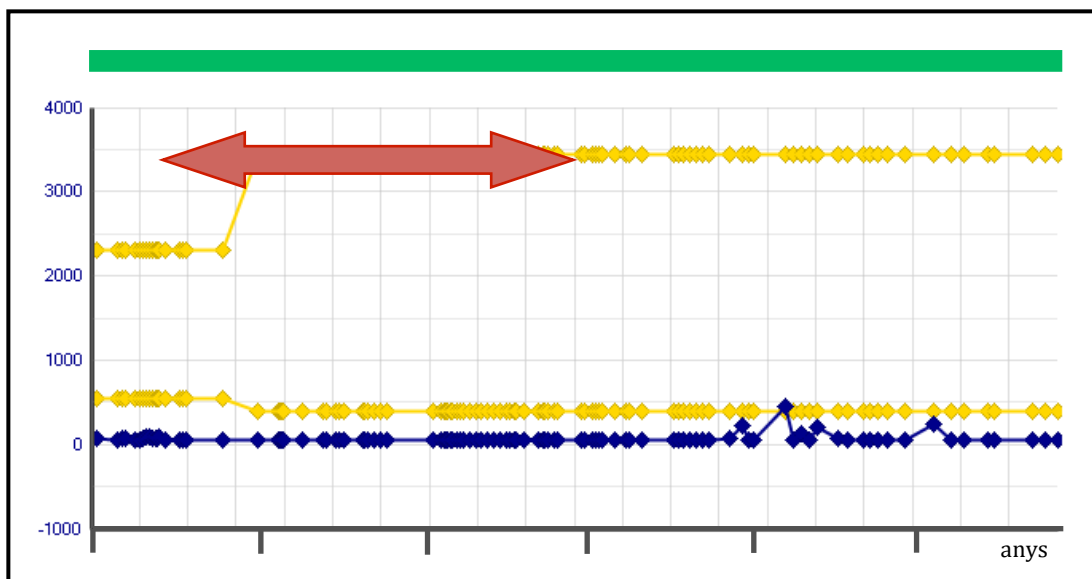
**Figura 4.18: P13:** Evolutiú de la Immunoglobulina G (mg/L)



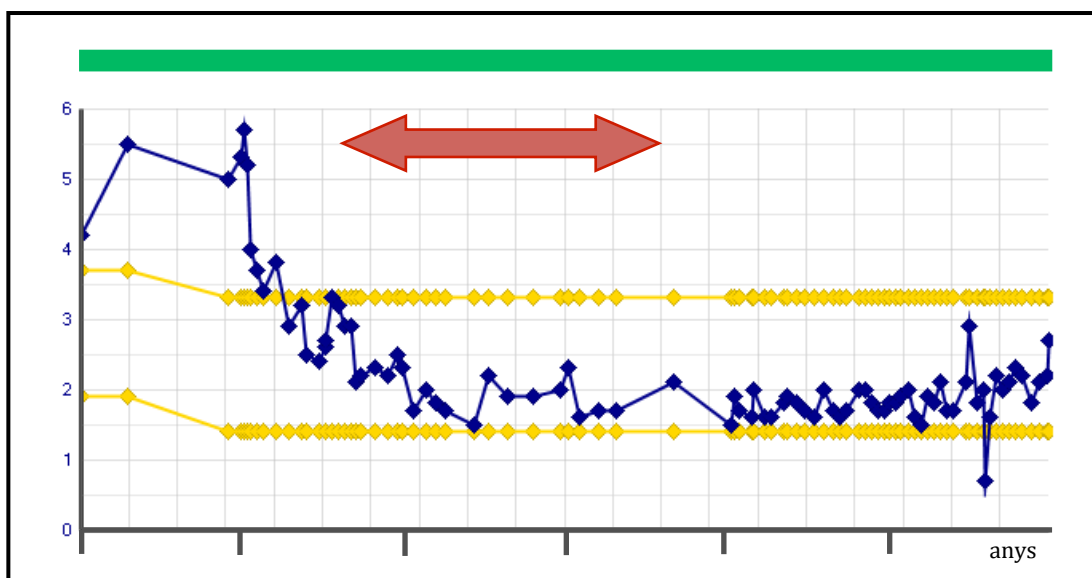
**Figura 4.19: P13:** Evolutiú de la Immunoglobulina A (mg/L)



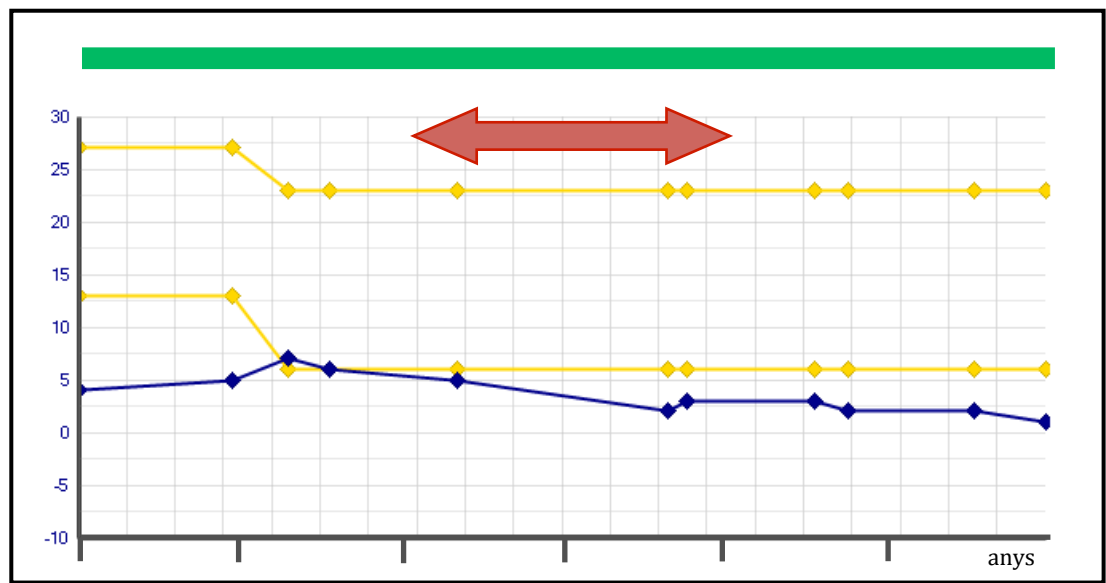
**Figura 4.20: P13:** Evolutiú de la Immunoglobulina M (mg/L)



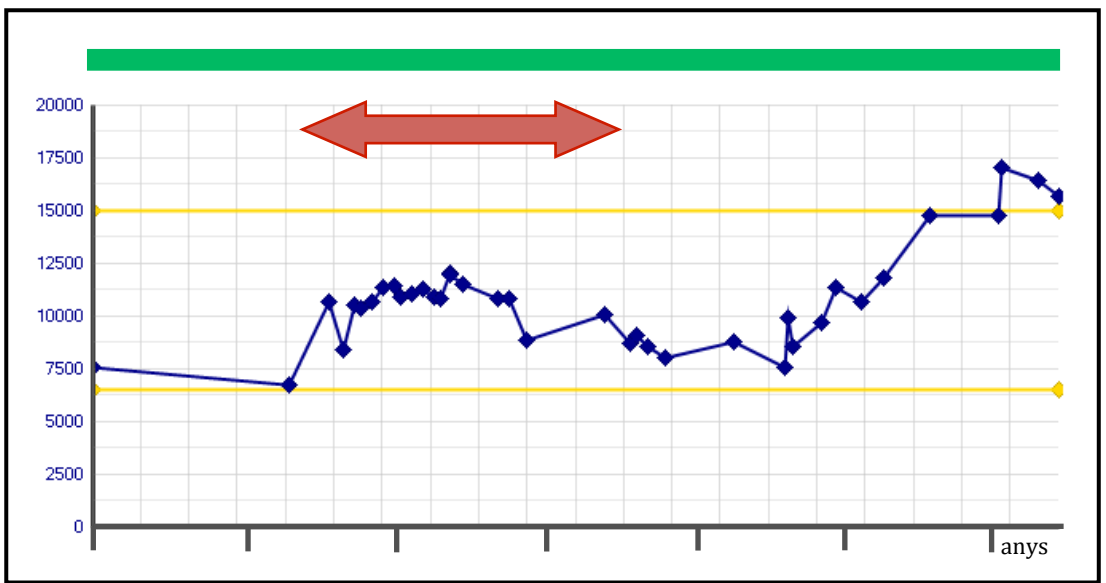
**Figura 4.21: P15:** Evolutiú del nombre de limfòcits absoluts (Mil/mmcc)



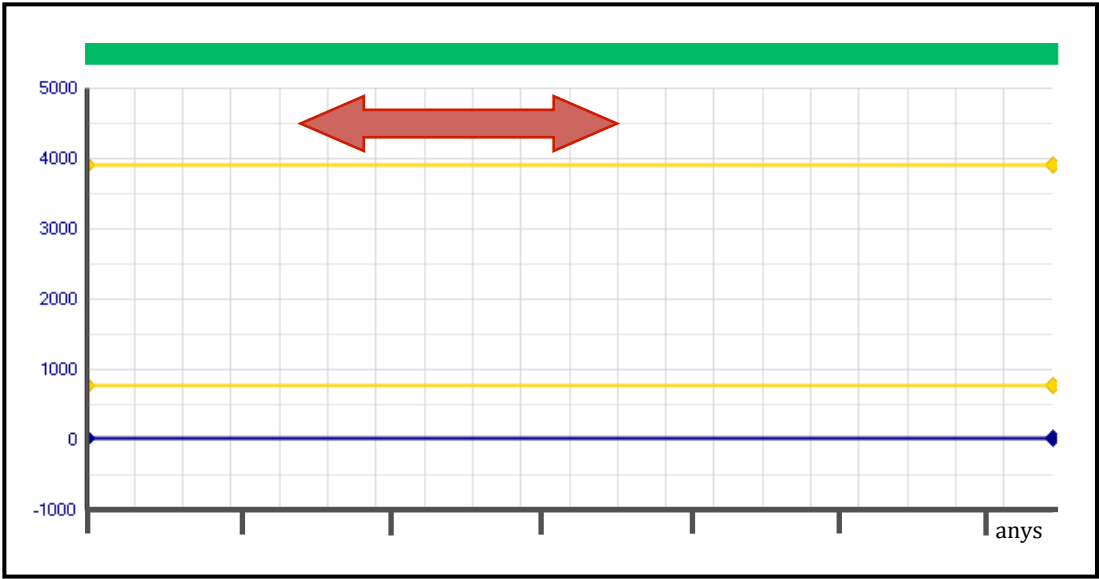
**Figura 4.22: P15:** Evolutiú del nombre de limfòcits B (%)



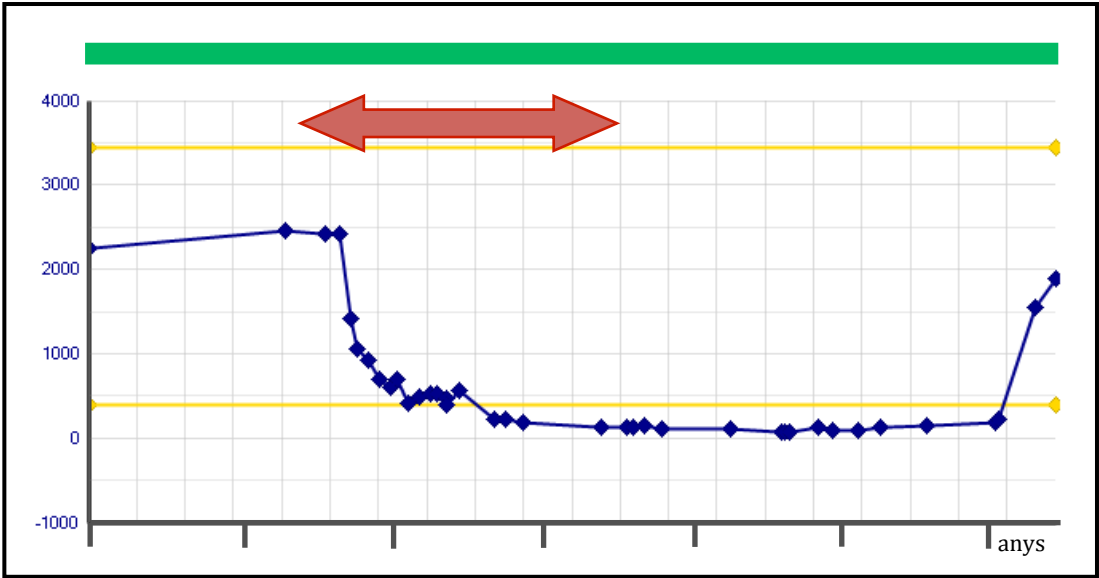
**Figura 4.23: P15:** Evolutiú de la Immunoglobulina G (mg/L)



**Figura 4.24: P15:** Evolutiú de la Immunoglobulina A (mg/L)



**Figura 4.25: P15:** Evolutiú de la Immunoglobulina M (mg/L)



### **4.2.3 Resultat referents a l'Objectiu específic 3**

**Analitzar la informació de les proves de laboratori i de les proves complementàries per tal de definir distribucions i patrons de paràmetres predictius analítics o de valor diagnòstic.**

#### **1) Descripció fenotípica i funcional de les poblacions limfoides circulants (subpoblacions B i T i capacitat proliferativa)**

Resultats de la descripció de les poblacions limfoides, subpoblacions B i T i estudi proliferació:

Els resultats analítics dels estudis realitzats durant l'estudi en els 25 pacients es troben a les **Taules 4.12, 4.13 i 4.14.**

Donat que els pacients tenen diferents edats en el moment de l'estudi i per tant els valors de normalitat i rangs de referència de les variables analitzades són diferents entre els pacients es decideix avaluar en funció d'estar fora de rang i els resultats i estadística s'expressen a les **Taules 4.15 i 4.16.**

Taula 4.12: Estudi de poblacions limfocitàries i estudi funcional de proliferació

	Limfòcits (cèls/mm <sup>3</sup> )	Limfòcits B (%)	Limfòcits B (cèls/mm <sup>3</sup> )	Limfòcits T (%)	Limfòcits T (cèls/mm <sup>3</sup> )	LT CD4 (%)	LT CD4 (cèls/mm <sup>3</sup> )	LT CD8 (%)	LT CD8 (cèls/mm <sup>3</sup> )	Cèl. NK (%)	Cèl. NK (cèls/mm <sup>3</sup> )	Estudi proliferació
P01	2.700	4,3	116,10	74,3	2.006,1	42,2	1.139,4	26,2	707,4	18,3	494,1	Normal
P02	490	1,1	5,39	79,5	389,55	51,1	250,39	24,4	119,56	17,2	84,28	Normal
P03	1.300	6,6	85,80	66,6	865,8	37,1	482,3	24,2	314,6	23,5	305,5	Alterat
P04	1.900	9,1	172,90	84,3	1.601,7	55,2	1.048,8	24,3	461,7	7	133	Normal
P05	1.400	3,2	44,80	82,2	1.150,8	44,4	621,6	34,1	477,4	12,6	176,4	Normal
P06	2.100	10,3	216,30	68,1	1.430,1	33,6	705,6	32,4	680,4	20,4	428,4	Normal
P07	1.200	7,6	91,20	84,3	1.011,6	50	600	34	408	6	72	Alterat
P08	1.800	7,1	127,80	70,1	1.261,8	24	432	36,4	655,2	20,4	367,2	Normal
P09	1.000	6,3	63,00	88,2	882	41,4	414	36,2	362	5,9	59	Normal
P10	1.700	12,1	205,70	70,1	1.191,7	46	782	19,9	338,3	17,2	292,4	Normal
P11	2.600	2,2	57,20	74,1	1.926,6	40,4	1.050,4	26	676	21,9	569,4	Normal
P12	1.300	17,1	222,30	55,8	725,4	29,4	382,2	17,1	222,3	25,1	326,3	Normal
P13	1.400	0,1	1,40	93,5	1.309	54	756	37,3	522,2	5,8	81,2	Normal
P14	1.200	11,8	141,60	75,5	906	37,8	453,6	36,4	436,8	11,8	141,6	Normal
P15	5.000	6	300,00	66	3.300	18	900	48	2.400	25	1.250	Normal
P16	2.700	16,6	448,20	67,2	1.814,4	27,9	753,3	34,1	920,7	15,1	407,7	Normal
P17	2.600	16	416,00	75,3	1.957,8	44,5	1.157	26,9	699,4	8,1	210,6	Normal
P18	2.000	14,2	284,00	67,5	1.350	38,8	776	15,5	310	14,7	294	Normal
P19	2.200	21,6	475,20	66,3	1.458,6	40,7	895,4	22,6	497,2	10,4	228,8	Normal
P20	2.100	15,7	329,70	54,9	1.152,9	22,2	466,2	25,8	541,8	26,8	562,8	Normal
P21	1.300	13,4	174,20	76,9	999,7	49,4	642,2	23,4	304,2	5,9	76,7	Normal
P22	700	14	98,00	67,8	474,6	44	308	22,1	154,7	15,3	107,1	Normal
P23	1.900	23,8	452,20	67,2	1.276,8	34	646	28,3	537,7	7,2	136,8	Normal
P24	3.600	12,6	453,60	83,3	2.998,8	41,4	1.490,4	34,5	1242	3,6	129,6	Normal
P25	5.400	7,9	426,60	89	4.806	27,7	1.495,8	57,1	3.083,4	2,1	113,4	Alterat

LT: limfòcits T; cèls: cèl·lules.

**Taula 4.13:** Estudi de subpoblacions limfocitàries B

	LB naïf (%)	LB naïf (cèls/mm <sup>3</sup> )	LB memòria (%)	LB memòria (cèls/mm <sup>3</sup> )	LB memòria commutats (%)	LB memòria commutats (cèls/mm <sup>3</sup> )	LB marginals (%)	LB marginals (cèls/mm <sup>3</sup> )	LB transicionals (%)	LB transicionals (cèls/mm <sup>3</sup> )	Plasmablastes (%)	Plasmablastes (cèls/mm <sup>3</sup> )	LB CD21 <sup>low</sup> (%)	LB CD21 <sup>low</sup> (cèls/mm <sup>3</sup> )
P01	95,3	110,64	3,3	3,83	1,6	1,86	20	23,22	0,1	0,12	1,7	1,97	20,7	24,03
P02	77,4	4,17	22	1,19	0	0,00	0	0,00	0,2	0,01	22,6	1,22	4,2	0,23
P03	77,8	66,75	17,9	15,36	5,2	4,46	17,6	15,10	1,7	1,46	4,5	3,86	17,2	14,76
P04	93,3	161,32	5,9	10,20	3,3	5,71	6,4	11,07	1,5	2,59	4,3	7,43	7,8	13,49
P05	45,4	20,34	42,1	18,86	19,3	8,65	6,2	2,78	27,8	12,45	6	2,69	19,3	8,65
P06	35,9	77,65	60,1	129,99	12,23	26,45	9,32	20,16	1,63	3,53	6	12,98	6,9	14,92
P07	97,6	89,01	1,3	1,19	0,2	0,18	18,2	16,60	4	3,65	1,9	1,73	25,8	23,53
P08	79	100,96	16,1	20,58	5,1	6,52	12,3	15,72	4,3	5,50	17	21,73	6,6	8,43
P09	85,6	53,93	8,4	5,29	4,3	2,71	6,4	4,03	1,8	1,13	5,4	3,40	9,4	5,92
P10	88,6	182,25	2,2	4,53	1,3	2,67	5	10,29	0,3	0,62	2	4,11	0,7	1,44
P11	81,2	46,45	17,7	10,12	5,6	3,20	12	6,86	0,4	0,23	8,5	4,86	13,7	7,84
P12	88	195,62	10,8	24,01	6,2	13,78	4,3	9,56	1,3	2,89	2,1	4,67	8,1	18,01
P13	30,8	0,43	15,4	0,22	0	0,00	12,3	0,17	23,1	0,32	6,54	0,09		
P14	91,1	129,00	1,9	2,69	1,4	1,98	8,1	11,47	1,1	1,56	2,5	3,54	1,5	2,12
P15	56,7	170,10	25,4	76,20	5,74	17,22	17,4	52,20	0,8	2,40	14,2	42,60	14,2	42,60
P16	74,4	333,46	2,8	12,55	1,1	4,93	5,03	22,54	25,8	115,64	3,5	15,69	3	13,45
P17	40,2	167,23	9,5	39,52	8,82	36,69	18	74,88	14,7	61,15	3	12,48	12,7	52,83
P18	82,8	235,15	15,9	45,16	0,59	1,68	12,7	36,07	4,2	11,93	8	22,72	3,5	9,94
P19	71,25	338,58	1,2	5,70	0,95	4,51	25,6	121,65	1,7	8,08	1,9	9,03	7,4	35,16
P20	77,3	254,86	2,5	8,24	1	3,30	1,9	6,26	1,4	4,62	1,9	6,26	2,2	7,25
P21	93,2	162,35	3,8	6,62	2,3	4,01	19,6	34,14	7,5	13,06	11,1	19,34	12	20,90
P22	84,7	83,01	7,3	7,15	5,3	5,19	3,4	3,33	5,9	5,78	3,3	3,23	12,3	12,05
P23	82,8	374,42	10,1	45,67	5,7	25,78	9,1	41,15	0,5	2,26	4,3	19,44	4	18,09
P24	80,9	366,96	19,1	86,64	14,5	65,77	0,7	3,18	2,3	10,43	21,6	97,98	5,5	24,95
P25	26,2	111,77	3	12,80	0,2	0,85	40,3	171,92	78,3	334,03	2,7	11,52	1,3	5,55

LB: limfòcits B; cèls: cèl·lules.



**Taula 4.14:** Estudi de subpoblacions limfocitàries T

	LT HLA-DR+ (%)	LT HLA-DR+ (cèls/mm <sup>3</sup> )	LT CD69+ (%)	LT CD69+ (cèls/mm <sup>3</sup> )	LT CD25+ (%)	LT CD25+ (cèls/mm <sup>3</sup> )	LT CD62Lneg (%)	LT CD62Lneg (cèls/mm <sup>3</sup> )	LT CD25++ (%)	LT CD25++ (cèls/mm <sup>3</sup> )
P01	7,5	150,46	7,1	142,43	6,3	126,38	8,6	172,52	1,1	22,07
P02	11,2	43,63	1,3	5,06	5,7	22,20	1,3	5,06	0,1	0,39
P03	15,2	131,60	2,1	18,18	7,5	64,94	0,4	3,46	0,2	1,73
P04	18,1	289,91	3,1	49,65	4,2	67,27	0,9	14,42	0,4	6,41
P05	15,3	176,07	2,6	29,92	6,4	73,65	0,7	8,06	0,2	2,30
P06	6,2	88,67	1,9	27,17	7,8	111,55	1,5	21,45	0,4	5,72
P07	13,2	133,53	3,2	32,37	4,4	44,51	2,4	24,28	0,8	8,09
P08	17,7	223,34	1,8	22,71	5,5	69,40	3,8	47,95	0,3	3,79
P09	6,2	54,68	3,7	32,63	6,3	55,57	2,8	24,70	1,1	9,70
P10	7,5	89,38	1,6	19,07	22	262,17	1,2	14,30	2	23,83
P11	14,7	283,21	2,6	50,09	1	19,27	1,1	21,19	0,1	1,93
P12	5,4	39,17	1,8	13,06	11	79,79	1,3	9,43	2,8	20,31
P13	7,7	100,79	1,9	24,87	8,9	116,50	1,4	18,33	0,3	3,93
P14	8,3	75,20	2,1	19,03	3,4	30,80	1,2	10,87	0,3	2,72
P15	9,3	306,90	2	66,00	2,9	95,70	1,4	46,20	0,1	3,30
P16	10,9	197,77	1,3	23,59	1,3	23,59	3,2	58,06	1	18,14
P17	2	39,16	3,5	68,52	1,4	27,41	8,5	166,41	0,5	9,79
P18	0,9	12,15	0,7	9,45	5,6	75,60	51	688,50	0,2	2,70
P19	4,5	65,64	2,6	37,92	4,8	70,01	1,7	24,80	0,2	2,92
P20	2,8	32,28	2,1	24,21	7,2	83,01	18	207,52	2,3	26,52
P21	8,4	83,97	12	119,96	8,5	84,97	0,4	3,99	0,2	1,99
P22	11,2	53,16	2,3	10,92	5,2	24,68	1,8	8,54	0,1	0,47
P23	10,3	131,51	4,3	54,90	3,8	48,52	0,9	11,49	0	0,00
P24	18,5	554,78	4,2	125,95	6,4	191,92	1,2	35,99	0,2	6,00
P25	19,2	922,75	0,9	43,25	0	0,00	11,4	547,88	0	0,00

LT: limfòcits T; cèls: cèl·lules.

**Taula 4.15:** Resultats i comparativa de les poblacions limfoides, subpoblacions B i estudi de proliferació

Variables		Total pacients	Grup 1	Grup 2	Grup 3	p
Estudi poblacions limfoides						
Limfopènia:	Nombre (%)	10/25 (40)	1/1 (100)	2/3 (66,7)	7/21 (33,3)	0,265
Limfòcits T ↓:	Nombre (%)					
- valor absolut		8/25 (32)	1/1 (100)	1/3 (33,3)	6/21 (28,6)	0,865
- %		2/25 (8)	1/1 (100)	0/3 (0)	1/21 (4,8)	0,699
Limfòcits T4 ↓:	Nombre (%)					
- valor absolut		9/25 (36)	1/1 (100)	1/3 (33,3)	7/21 (33,3)	1,000
- %		6/25 (24)	1/1 (100)	1/3 (33,3)	4/21 (19)	0,569
Limfòcits T8 ↓:	Nombre (%)					
- valor absolut		7/25 (28)	1/1 (100)	1/3 (33,3)	5/21 (23,8)	0,722
- %		2/25 (8)	1/1 (100)	0/3 (0)	1/21 (4,8)	0,699
Limfòcits NK ↓:	Nombre (%)					
- valor absolut		2/25 (8)	0/1 (0)	0/3 (0)	2/21 (9,5)	0,577
- %		2/25 (8)	0/1 (0)	0/3 (0)	2/21 (9,5)	0,577
Estudi subpoblacions B						
Limfòcits B ↓:	Nombre (%)					
- valor absolut		10/25 (40)	0/1 (0)	2/3 (66,7)	8/21 (38,1)	0,348
- %		10/25 (40)	0/1 (0)	2/3 (66,7)	8/21 (38,1)	0,348
Limfòcits B naïf ↑:	Nombre (%)					
- valor absolut		0/25 (0)	0/1 (0)	0/3 (0)	0/21 (0)	1,000
- %		13/25 (52)	1/1 (100)	1/3 (33,3)	11/21 (52,4)	0,537
Limfòcits B memòria ↓:	Nombre (%)					
- valor absolut		22/25 (88)	1/1 (100)	2/3 (66,7)	19/21 (90,5)	0,243
- %		16/25 (64)	1/1 (100)	1/3 (33,3)	14/21 (66,7)	0,265
Limfòcits B memòria commutats ↓:	Nombre (%)					
- valor absolut		22/25 (88)	1/1 (100)	3/3 (100)	18/21 (85,7)	0,484
- %		21/25 (84)	1/1 (100)	3/3 (100)	17/21 (80,9)	0,408
- ≤ 2%		11/25 (44)	0/1 (0)	1/3 (33,3)	10/21 (47,6)	0,642
- < 5 cèl·lules/mm <sup>3</sup>		15/25 (60)	0/1 (0)	1/3 (33,3)	14/21 (66,7)	0,265
Limfòcits B marginals ↓:	Nombre (%)					
- valor absolut		10/25 (40)	1/1 (100)	2/3 (66,7)	7/21 (33,3)	0,265
- %		9/25 (36)	1/1 (100)	1/3 (33,3)	7/21 (33,3)	1,000
Limfòcits B transicionals ↑:	Nombre (%)					
- valor absolut		3/25 (12)	0/1 (0)	0/3 (0)	3/21 (14,3)	0,484
- %		5/25 (20)	0/1 (0)	1/3 (33,3)	4/21 (19)	0,569
Plasmablastes ↓:	Nombre (%)					
- valor absolut		1/25 (4)	0/1 (0)	1/3 (33,3)	0/21 (0)	0,007
- %		0/25 (0)	0/1 (0)	0/3 (0)	0/21 (0)	1,000
Limfòcits B CD21 <sup>low</sup> CD38 <sup>low</sup> ↑:	Nombre (%)					
- valor absolut		5/24 (20)	0/1 (0)	1/2 (50)	4/21 (19)	0,311
- %		9/24 (37,5)	0/1 (0)	2/2 (100)	7/21 (33,3)	0,065
- ≥ 10%		9/24 (37,5)	0/1 (0)	2/2 (100)	7/21 (33,3)	0,065
Proliferació normal	Nombre (%)	22/25 (88)	1/1 (100)	3/3 (100)	18/21 (85,7)	0,484

El 40% dels pacients estudiats tenen limfopènia. Els pacients del **Grup 3** presenten disminució dels limfòcits T totals, limfòcits T4 i T8 en aproximadament una tercera part dels pacients (6/21, 7/21 i 5/21, respectivament) en valors absoluts però no en percentatges. En aquest mateix grup 8/21 pacients presenten disminució de limfòcits B tant en nombre absolut com en percentatge, trobant-se també en 2 dels 3 pacients del **Grup 2**. El nombre de limfòcits B memòria i memòria commutats estan disminuïts en la major part dels pacients del **Grup 3** tant en valor absolut (90,5 i 85,7 %) com en percentatge (66,7 i 80,9 %). El 66,7 % dels pacients d'aquest grup tenen menys de 5 limfòcits B memòria commutats. Els 7 pacients del **Grup 3** que presenten augment del percentatge de limfòcits B CD21<sup>low</sup>CD38<sup>low</sup> i els 4 amb elevació del nombre absolut (un d'ells no té augmentat el percentatge), en total 8 pacients, estan afectes de malaltia autoimmunitària. En el **Grup 2**, dels 2 pacients amb augment del percentatge només 1 presenta malaltia autoimmunitària i no es correspon amb el que també té el nombre absolut elevat.

Es realitza anàlisi estadística entre el **Grup 2** i **3**. Es troben diferències estadísticament significatives ( $p$  0,007) en el nombre de plasmablastes en valor absolut (cap pacient del **Grup 3** presenta disminució de plasmablastes) i una  $p$  de 0,065 en el nombre de limfòcits B CD21<sup>low</sup>CD38<sup>low</sup> tant en la valoració de percentatge elevat com de percentatge igual o major al 10% en el **Grup 2** respecte el **Grup 3**. En la resta de determinacions no es troben diferències significatives entre el **Grup 2** i **3**.

S'analitzen en valor absolut i en percentatge els valors dels limfòcits T HLA-DR+, limfòcits T CD69+, limfòcits T CD25+, limfòcits T CD62Lneg i els limfòcits T CD25++ (o limfòcits T reguladors). No es troben diferències significatives entre els resultats del **Grup 2** respecte el **Grup 3**. La majoria dels pacients (84%) presenten activació de més del 5% dels limfòcits T HLA-DR+ expressant una activació crònica i només el 8% dels pacients mostren activació de més del 5% dels limfòcits T CD69+ com marcador d'activació aguda. Només el pacient del **Grup 1** i un (4,8%) dels pacients del **Grup 3** presenten limfòcits T reguladors > al 2%.

**Taula 4.16:** Resultats i comparativa referents a l'activació de les subpoblacions T

Variables		Total pacients	Grup 1	Grup 2	Grup 3	p
Limfòcits T HLA-DR+: - valor absolut - %	Mediana (rang)	100,79 (12,15-922,75) 9,3 (0,9-19,2)	39,17  5,4	100,79 (53,15-306,90) 9,30 (7,7-11,2)	131,51 (12,15-922,75) 10,30 (0,9-19,2)	0,896  0,930
Limfòcits T CD69+: - valor absolut - %	Mediana (rang)	29,92 (5,06-142,43) 2,10 (0,7-12,0)	13,06  1,8	24,87 (10,91-66,0) 2,00 (1,90-2,30)	32,37 (5,06-142,43) 2,60 (0,7-12,0)	0,694  0,484
Limfòcits T CD25+: - valor absolut - %	Mediana (rang)	69,40 (0,00-262,17) 5,60 (0,0-22,0)	79,79  11	95,70 (24,68-116,50) 5,20 (2,90-8,90)	67,27 (0,00-262,17) 5,60 (0,0-22,0)	0,513  0,896
Limfòcits T CD62lneg: - valor absolut - %	Mediana (rang)	21,45 (3,46-688,50) 1,40 (0,4-51,0)	9,43  1,3	18,33 (8,54-46,20) 1,40 (1,4-18)	24,28 (3,46-688,50) 1,50 (0,4-51,0)	0,631  0,965
Limfòcits T CD25++: - valor absolut - %	Mediana (rang)	3,78 (0,00-26,52) 0,30 (0,0-2,8)	20,31  2,8	3,30 (0,47-3,93) 0,10 (0,1-0,3)	3,78 (0,00-26,51) 0,30 (0,0-2,3)	0,513  0,200
Limfòcits T HLA-DR+ >5%	Nombre (%)	21/25 (84)	1/1 (100)	3/3 (100)	17/21 (81)	0,408
Limfòcits T CD69+ >5%	Nombre (%)	2/25 (8)	0/1 (0)	0/3 (0)	2/21 (9,5)	0,577
Limfòcits T CD25+ >10%	Nombre (%)	2/25 (8)	1/1 (100)	0/3 (0)	1/21 (4,8)	0,699
Limfòcits T CD25++ >2%	Nombre (%)	2/25 (8)	1/1 (100)	0/3 (0)	1/21 (4,8)	0,699

## **2) Descripció de les proves complementàries realitzades: estudis de funció pulmonar, estudis d'imatge: ecografia abdominal, radiologia i/o TC toràcica**

Resultats referents a les proves complementàries de funció pulmonar i imatge realitzades:

Les proves estan realitzades majoritàriament durant el període d'estudi, excepte la pacient **P02** que es reclutà en el moment de fer el canvi al centre d'adults, es realitzà l'anàlisi però al no poder-se coordinar la realització de la resta de proves s'han inclòs les prèvies més recents (espirometria de feia 2 anys i proves d'imatge de 4 anys abans). Les radiografies de tòrax estan realitzades en el període d'estudi, excepte per als pacients **P01**, **P02** i **P06**. Respecte les TC toràciques, també estan realitzades durant el període d'estudi excepte les dels pacients **P01**, **P02**, **P03** i **P06**. En aquest darrers pacients no es va poder realitzar la radiografia i/o TC durant el període d'estudi però al disposar d'estudis previs es va considerar adequat incloure les més recents (entre 3 i 6 anys abans).

En els 25 pacients es va realitzar espirometria, en el pacient **P01** tot i que es va realitzar la prova les dificultats en la col·laboració del pacient van fer que no s'obtinguessin 3 corbes reproduïbles impossibilitant la valoració de la prova. En 20 (83,4%) dels pacients la prova va ser normal, 2 (8,3 %) pacients van presentar un patró obstructiu i 2 (8,3 %) un patró mixt. Al comparar el fet de presentar una patró alterat *versus* normal entre el **Grup 2** (2/3) respecte el **Grup 3** (2/20) troben una *p* significativa de 0,016.

**Taula 4.17:** Resultats de les proves complementàries.

	Espirometria (patró)	Rx de tòrax	TC toràcica	Ecografia abdominal	Diàmetre bipolar de la melsa (cm)
P01	No col·labora	Normal	Canvis postinfecció	Esteatosi hepàtica	Normal
P02	Mixt	Canvis postinfecció	LIP	Esplenomegàlia	16,5
P03	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
P04	Normal	Normal	No realitzat	Esplenomegàlia	15,7
P05	Normal	Normal	No realitzat	Normal	Normal
P06	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
P07	Normal	No realitzat	LIP	Esplenomegàlia	17,3
P08	Normal	No realitzat	Normal	No realitzat	No realitzat
P09	Normal	Normal	No realitzat	Normal	Normal
P10	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
P11	Normal	Normal	No realitzat	Normal	Normal
P12	Normal	Normal	No realitzat	Normal	Normal
P13	Mixt	Normal	Canvis postinfecció	Esplenomegàlia	19
P14	Normal	Normal	No realitzat	Normal	Normal
P15	Obstructiu	Normal	Adenopaties	Esplenomegàlia	14
P16	Normal	No realitzat	Canvis postinfecció	Normal	11,9
P17	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
P18	Obstructiu	Normal	Normal	Normal	Normal
P19	Normal	Normal	No realitzat	Normal	Normal
P20	Normal	Normal	No realitzat	Esplenomegàlia	11,6
P21	Normal	Normal	No realitzat	Esplenomegàlia	12,4
P22	Normal	Normal	Bronquièctasi, LIP	Esplenomegàlia	14
P23	Normal	No realitzat	Normal	Normal	Normal
P24	Normal	Normal	Adenopaties axil·lars	Normal	Normal
P25	Normal	Canvis postinfecció	Bronquièctasi	Normal	Normal

Rx: radiografia; TC: tomografia computada; LIP: pneumònia intersticial limfocítica.

En 21 dels pacients es disposa de radiografia de tòrax sent normal en 19 (90,5 %) i presentant canvis postinfecciosos en els altres 2/21 (9,5%). En cap dels pacients es troben alteracions a la radiologia suggestives de canvis relacionats amb la IDCV. La TC de tòrax es realitza en 16 dels 25 pacients. Dels 9/16 pacients amb alteracions a la TC 3 presentaven canvis postinfecciosos i 6 alteracions atribuïbles a la immunodeficiència. En els 3 pacients

del **Grup 2** va mostrar alteracions. La pacient **P13** en el moment de l'estudi mostrava canvis postinfecciosos a la TC toràcica, però com es disposa de TC inicials amb imatges nodulars en el moment del diagnòstic del limfoma MALT pulmonar que es tractà amb rituximab i una TC posterior a la de l'estudi que no mostrava canvis suggestius de LIP ni nòduls, a efectes de l'estudi estadístic s'ha considerat d'analitzar-la com a dada no valorable o perduda. Dels pacients del **Grup 3**, 4 presenten alteracions relacionades amb la immunodeficiència. Si comparem alteració a la TC toràcica entre **Grup 2** (2/2) i **Grup 3** (4/13) obtenim una  $p$  de 0,063, si valoréssim la TC en qualsevol moment de l'evolució seria 3/3 respecte 4/13 amb una  $p$  de 0,029.

Dels 24/25 on s'ha realitzat ecografia abdominal 8 (33,3%) presenten esplenomegàlia. A la taula es mostren els valors del diàmetre bipolar de la melsa en els pacients que la determinació era superior al seu rang de normalitat per edat. El fet de presentar esplenomegàlia en el **Grup 2** (3/3) respecte el **Grup 3** (5/21) mostra una  $p$  de 0,011. En l'anàlisi dels 21 pacients del **Grup 3** respecte a tenir esplenomegàlia ( $N = 5$ , 23,81 %) respecte a no tenir-ne ( $N = 15$ , 71,43 %), els primers pacients tenen més pneumònia intersticial limfocítica (2/5 (40%) respecte 0/15 (0%),  $p$  0,010), més associació de malaltia autoimmunitària organoespecífica amb citopènia (2/5 (40%) respecte 0/15 (0%),  $p$  0,010) i més hiperplàsia limfoide en aquest cas pel fet que la seva definició inclou el presentar esplenomegàlia (5/5 (100 %) respecte 1/15 (6,66 %),  $p$  0,000) que els que no tenen esplenomegàlia. No es troben diferències estadísticament significatives en l'estudi de la resta de variables.

### 3) Contacte amb virus limfotròfics

Resultats de l'estudi de virus limfotròfics:

En una mostra de 17 pacients s'ha realitzat estudi per PCR a herpesvirus humà (HVH) 6, 7 i 8, es determina en plasma i en DNA. En 2 pacients, inclosos posteriorment a l'enviament de les mostres a Majadahonda, es va sol·licitar aquesta determinació en plasma. Els resultats de les determinacions en plasma mostren 1 pacient positiu per a HVH6 i 1 per a HVH7 dels 19 pacients estudiats i cap positiu per a HVH8. Dels estudi realitzats en DNA hi ha un resultat positiu per a HVH6 i 2 per a HVH7 dels 17 pacients estudiats.

**Taula 4.18:** Determinacions per PCR de l'herpesvirus humà 6, 7 i 8 (en plasma i en DNA) en una mostra de pacients

	HVH6 (plasma)	HVH7 (plasma)	HVH8 (plasma)	HVH6 (DNA)	HVH7 (DNA)	HVH8 (DNA)
P01	-	-	-	-	-	-
P07	-	-	-	-	-	-
P08	-	-	-	-	+	-
P09	-	-	-	-	-	-
P10	-	-	-	-	-	-
P11	-	-	-	-	-	-
P12	+	-	-	+	-	-
P13	-	-	-	-	-	-
P14	-	-	-	-	-	-
P15	-	-	-	-	+	-
P16	-	-	-	-	-	-
P17	-	-	-	-	-	-
P18	-	-	-	-	-	-
P19	-	-	-	-	-	-
P20	-	-	-	-	-	-
P22	-	+	-	NR	NR	NR
P23	-	-	-	-	-	-
P24	-	-	-	NR	NR	NR
P25	-	-	-	-	-	-

HVH6: herpesvirus humà 6; HVH7: herpesvirus humà 7; HVH8: herpesvirus humà 8; NR: no realitzat.

La revisió de l'estudi d'altres virus limfotrófics realitzats al llarg del seguiment en alguns dels 25 pacients mostra: 3 pacients amb PCR+ per a CMV de 7 realitzats, determinació d'IgG per CMV positiu en 4/12, IgM per CMV positiu en 1/8; 1 pacients amb PCR+ per a VEB de 8 realitzats, determinació d'IgG per a VEB positiva en 5/10 i IgM per a VEB negativa en els 6 pacients estudiats.

En els 4 pacients amb biòpsies d'adenopaties (**P03**, **P15**, **P22** i **P24**) s'ha realitzat detecció del VEB per hibridació in situ i per PCR sent positiva en 1 dels casos (**P15**) i negativa en la resta.



El pacient del **Grup 1** presenta herpesvirus humà 6 positiu en plasma i DNA. Els pacients **P08** i **P15** presenten PCR a HVH7 positiu en DNA i negatiu en plasma. Aquest darrer també presenta PCR, IgG i IgM a CMV positives en sang i PCR a VEB negativa en sang però persistentment positiva a les biòpsies ganglionars. El pacient **P22** presenta PCR a HVH7 positiu en plasma i no es té determinació en mostra de cèl·lules, és l'únic dels 3 pacients amb LIP que mostra una PCR a herpesvirus positiva (en el pacient **P02** no estan fetes les determinacions de PCR a HVH). Els 3 pacients amb adenopaties persistents presenten PCR i/o IgG positives a CMV. Els 3 pacients amb limfoma MALT presenten alguna PCR i/o serologia positives a CMV o VEB, no així el pacient amb limfoma de Burkitt. Dels 11 pacients en els que es disposa de 2 o més determinacions (PCR i/o serologies a CMV i VEB) i no tenen limfoma, 7 tenen alguna determinació positiva.

S'ha realitzat cribratge de VIH en la majoria dels pacients previ a tractament amb GGEV i/o quan presentàvem limfopènia T4, s'han realitzat 15 determinacions totes negatives.

En la comparativa del **Grup 2** amb el **Grup 3** trobem: serologia o PCR a CMV o VEB positives 3/3 i 7/12 amb una  $p$  de 0,171, i PCR a herpesvirus humà 6, 7 o 8 positiva 2/3 i 1/15 amb una  $p$  de 0,011.

#### **4) Estudis de MBL i APRIL**

Resultats estudi MBL:

L'estudi de la lectina o proteïna d'unió a mannanosa (MBL) s'ha realitzat en 21 dels 25 pacients.

A la **Taula 4.19** es mostren els resultats per pacients de l'haplotip, genotip i la classificació segons el genotip en productors alts, baixos o deficients. Classificació segons el genotip en productors alts, baixos o deficients: A/A, XA/A: productor alt de MBL (>1000 ng/mL), XA/XA, O/A: productors baixos (200-1000 ng/mL) i XA/O, O/O: productors deficients (<200 ng/mL).

**Taula 4.19:** Estudi d'haplotips i genotips de MBL

	Haplotip	Genotip	Productor MBL
<b>P01</b>	NR	NR	
<b>P02</b>	LXPA/LXPA	XA/XA	baix
<b>P03</b>	LYPA/LYQA	A/A	alt
<b>P04</b>	NR	NR	
<b>P05</b>	NR	NR	
<b>P06</b>	LYPA/LYQA	A/A	alt
<b>P07</b>	HYP A/LYQA	A/A	alt
<b>P08</b>	HYP A/HYP A	A/A	alt
<b>P09</b>	LYPA/LYPB	A/O	baix
<b>P10</b>	HYP A/HYP A	A/A	alt
<b>P11</b>	LYPA/LYQA	A/A	alt
<b>P12</b>	HYP A/LYQA	A/A	alt
<b>P13</b>	NR	NR	
<b>P14</b>	LXPA/LYPB	XA/O	deficient
<b>P15</b>	LXPA/LYPB	XA/O	deficient
<b>P16</b>	LXPA/LYPB	XA/O	deficient
<b>P17</b>	HYPD/LYPB	O/O	deficient
<b>P18</b>	HYP A/LXPA	A/XA	alt
<b>P19</b>	HYP A/LXPA	A/XA	alt
<b>P20</b>	HYP A/LYQA	A/A	alt
<b>P21</b>	HYP A/LYQC	A/O	baix
<b>P22</b>	LXPA/LYQA	XA/A	alt
<b>P23</b>	LYPB/LYQA	O/A	baix
<b>P24</b>	LYQA/LYQA	A/A	alt
<b>P25</b>	LYPA/LYQC	A/O	baix

NR: no realitzat

La descripció per grups segons genotip i productor alt o baix (baix o deficient) es troba a la **Taula 4.20** sense identificar diferències entre el **Grup 2** respecte el **Grup 3** ( $p$  0,881).

S'analitzen els 18 pacients del **Grup 3**. Respecte els 18 al·lels codificats per l'exó 1 de la MBL, l'al·lel A és el més freqüent (77,8 %), seguit del B (13,9 %). En quant al genotip, l'homozigosi per l'al·lel normal (A/A) es troba en el 61,1% dels pacients amb IDCV i en el 33,3% dels casos el genotip heterozigot (A/O). L'haplotip més representat és l'HYP A en el

25%, seguit del LYQA en el 22%, essent l'HYPD el menys freqüent en un 2,8%. Respecte la classificació segons la producció de MBL el 55,6 % dels pacients presenta producció normal i el 44,4 % producció baixa (27,7 % baixa i 16,6 % deficient). Per a relacionar els genotips amb la clínica es compara el grup de pacients productors alts (N = 10) respecte els productors baixos/deficients (N = 8) sense trobar diferències estadísticament significatives en les variables analitzades (edat d'inici de la clínica, edat al diagnòstic d'IDCV, edat de la primera infecció, retard en el diagnòstic, neoplàsia, al·lèrgia, malaltia autoimmunitària (qualsevol, citopènia, organoespecífica o ambdues), enteropatia, malaltia pulmonar crònica, infeccions significatives, mal pronòstic 1 i 2, bronquièctasi, pneumònia intersticial limfocítica, pneumònia, esplenomegàlia, adenopaties persistents, hiperplàsia limfoide, estancament pondoestatural). Es realitza la mateixa comparativa agrupant els pacients en productors alts/baixos (N = 15) respecte productors deficients (N = 3) sent l'única diferència estadísticament significativa pel fet de presentar al·lèrgia (2 pacients a cada grup) amb una *p* de 0,043.

**Taula 4.20:** Descripció dels haplotips i genotips de MBL per grups de pacients.

Variables		Total pacients	Grup 1	Grup 2	Grup 3
<b>Genotip:</b>	Nombre (%)	21/25 (84)	1/1 (100)	2/3 (66,6)	18/21 (85,7)
• A/A		13/21 (61,9)	1/1 (100)	1/2 (50)	11/18 (61,1)
• A/O		7/21 (33,3)	0/1 (0)	1/2 (50)	6/18 (33,3)
• O/O		1/21 (4,8)	0/1 (0)	0/2 (0)	1/18 (5,6)
<b>Productor:</b>	Nombre (%)	21/25 (84)	1/1 (100)	2/3 (66,6)	18/21 (85,7)
• alt		12/21 (57,1)	1/1 (100)	1/2 (50)	10/18 (55,6)
• baix/deficient		9/21 (42,9)	0/1 (0)	1/2 (50)	8/18 (44,4)
<b>Grup 3 (N = 18)</b>					
<b>Al·lel exó 1:</b>	Nombre (%)	<b>Haplotip:</b>	Nombre (%)	<b>Productor:</b>	Nombre (%)
• A	28 (77,8)	• HYPA	9 (25)	• alt	10 (55,6)
• B	5 (13,9)	• LYQA	8 (22,2)	• baix	5 (27,7)
• C	2 (5,5)	• LXPA	6 (16,7)	• deficient	3 (16,6)
• D	1 (2,8)	• LYPB	5 (13,9)		
		• LYPA	5 (13,9)		
		• LYQC	2 (5,5)		
		• HYPD	1 (2,8)		

#### Resultats estudi APRIL:

Es mostren els resultats dels valors d'APRIL (l·ligand inductor de proliferació) expressats en nanograms per mil·lilitre dels 25 pacients estudiats. La comparativa entre els valors del **Grup 2** i **3** no mostra diferències estadísticament significatives. En l'anàlisi dels 21 pacients del **Grup 3** segons si els pacients presenten o no alguna malaltia autoimmunitària o si tenen citopènia respecte no tenir-ne tampoc es troben diferències. Tampoc existeixen diferències entre els pacients que presenten limfoma, limfoproliferació policlonal o el fet de pertànyer al grup de no complicacions o el fet de ser home o dona respecte a no presentar aquesta condició ( $p$  de 0,549, 0,688, 0,815 i 0,620, respectivament).

No es troba correlació entre l'edat dels pacients i els valors d'APRIL (coef 0,195,  $p$  0,351).

**Taula 4.21:** Determinació valors APRIL (ng/mL) i comparativa entre grups

	APRIL		Total pacients	Grup 1	Grup 2	Grup 3	p
P01	5,49	Mitjana Mediana (rang)	14,92	11,75	23,11	13,90	0,176
P02	8,1875		11,47		20,69	8,35	
P03	14,3515		(0,77-48,28)		(10,55-38,09)	(0,77-48,28)	
P04	5,4815						
P05	8,3455						
P06	46,375						
P07	13,8885						
P08	48,284						
P09	17,5255						
P10	0,984						
P11	46,975						
P12	11,747						
P13	20,689						
P14	4,226						
P15	38,0905						
P16	15,324						
P17	12,325						
P18	2,134						
P19	1,919						
P20	<0,78						
P21	4,118						
P22	10,552						
P23	19,367						
P24	2,8845						
P25	12,9275						

		Grup 3	N = 21	AI = 12	No AI = 9	p
	Mitjana	13,90	13,90	11,42	17,21	0,570
	Mediana	8,35	8,35	8,27	12,93	
	(rang)	(0,77-48,28)	(0,77-48,28)	(0,98-46,97)	(0,77-48,28)	
		Grup 3	N = 21	CIT = 5	No CIT = 16	p
	Mitjana	13,90	13,90	9,51	15,26	1,000
	Mediana	8,35	8,35	8,35	8,91	
	(rang)	(0,77-48,28)	(0,77-48,28)	(2,88-14,35)	(0,77-48,28)	

AI: malaltia autoimmunitària; CIT: citopènia.

## 5) Capacitat de resposta a la vacuna antipneumocòccica 23-valent

Resultats de l'estudi de la resposta a la vacuna antipneumocòccica 23-valent:

A la **Taula 4.22** es recullen les dades dels 25 pacients respecte l'administració de la vacuna antipneumocòccica 23-valent. Tres dels pacients havien rebut prèviament la vacuna antipneumocòccica conjugada i 6/25 havien rebut una dosi prèvia de la vacuna antipneumocòccica-23 valent. En 3 dels pacients no es va poder administrar la vacuna, en 2 d'ells per la seva situació clínica en el moment de l'estudi (els 2 del **Grup 2**). Dels 22

pacients als que es va administrar la vacuna, 11 (50%) estaven en tractament amb GGEV i l'altre meitat sense. Respecte els nivells basals d'Ac IgG anti-*S.pneumoniae* 5/25 pacients mostraven nivells no protectors (<250 U/L), tots ells estaven sense tractament amb GGEV i 3 d'ells havien rebut alguna dosi prèvia de vacuna antipneumocòccica. Després de la vacuna, 2 d'aquest 5 pacients segueixen sense tenir nivells protectors. Dels 3 que assolixen nivells protectors, 1 no dobla nivells, i els altres 2 fan un augment superior a 4 vegades els basals; tots 3 perden nivells protectors abans d'un any. Dels 22 pacients vacunats, 20 tenen nivells post-vacunals protectors però només 3/20 han doblat els nivells.

En una mostra de 14 pacients es determina resposta vacunal per serotips. S'analitzen 16 serotips: 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9V, 14, 15B, 18C, 19A, 19F, 20, 23F i 33F. Es consideren nivells protectors  $\geq 1,3 \mu\text{g/mL}$ , els rangs de detecció del serotip 4 són mínim 0,00002 i màxim 0,78  $\mu\text{g/mL}$  motiu pel que es decideix avaluar la resposta respecte els altres 15 serotips. Només 2 dels 14 (14,3%) pacients presenten resposta normal per serotips (**P12** i **P20**), sent tots 2 pacients que presentaven nivells globals protectors pre- i postvacunals, tot i que no doblaven els valors basals. Dels 14 pacients avaluats 6 estaven en tractament amb GGEV, tot i que en la determinació global mostraven nivells protectors pre- i postvacunals cap d'ells presentava resposta quan s'avaluaven per serotips. Dels 8 pacients sense tractament amb GGEV en el moment de la vacunació, 2 van presentar resposta normal i els altres 6: 3 resposta moderada (2 presentaven nivells globals protectors pre- i postvacunals sense doblar valors i el 3r pacient nivells protectors post vacunals amb augment superior a 4 vegades els basals però perdent protecció en menys d'un any) i 3 resposta greu (1 dels pacients no assolix nivells protectors al global, els altres 2 si, un dobla i l'altre no els valors basals, tots 2 perden protecció abans d'un any).

**Taula 4.22:** Resposta a la vacuna antipneumocòccica 23-valent en global i per serotips

	Vacuna Pnc-c (nº dosis)	Vacuna Pnc23 (nº dosis)	GGIV	Pre-Pnc23	Post-Pnc23	Nivells basals protectors	Nivells post protectors	Doblen nivells basals	Nº serotips basals >1.3	Nº serotips post >1.3	Resposta per serotips	Grau resposta per serotips
P01			si	956,5	439,5	si	si	no				
P02			si	1.168,5	*	si	*					
P03			si	679,5	680,5	si	si	no	1	0	no	
P04			si	621,5	611	si	si	no				
P05			si	1.479	1.600	si	si	no	4	5	no	
P06			si	1.073	1.168,5	si	si	no	3	7	no	
P07			si	1.595,5	1.485	si	si	no				
P08			si	1.448	1.223	si	si	no				
P09			si	684	618,5	si	si	no	1	0	no	
P10		Si (1)	no	2.716	3.110	si	si	no	6	9	no	moderada
P11			si	663,5	887	si	si	no	0	0	no	
P12		Si (1)	no	1.311,5	2.420	si	si	no	0	11	si	normal
P13			si	1.333,5	*	si	*					
P14		Si (1)	no	186	260,5	no	si	no	1	1	no	greu
P15			si	1.686	*	si	*					
P16			no	6,4	35,6	no	no	no	0	0	no	greu
P17			no	1.183	1.347,5	si	si	no	1	8	no	moderada
P18			no	563	1.102,5	si	si	no				
P19		Si (2)	no	273	785,5	si	si	si				
P20	Pnc7 (1)	Si (1)	no	1.330	2126	si	si	no	6	12	si	normal
P21	Pnc7 (4)		no	47,4	271,5	no	si	si	2	2	no	greu
P22			no	43	4	no	no	no				
P23		Si (1)	si	1.382,5	1.333,5	si	si	no	2	2	no	
P24	Pnc10 (4)		no	77,1	1.812	no	si	si	1	9	no	moderada
P25			si	439,5	390	si	si	no				

Vacuna Pnc-c: vacuna antipneumocòccica conjugada; vacuna Pnc23: vacuna antipneumocòccica 23-valent; GGIV: pacient en tractament amb gammaglobulines iv en el moment d'administrar vacuna Pnc23; \*: pacient no vacunat; Pre-Pnc23: nivells Ac IgG anti-*S.pneumoniae* previ a l'administració de la vacuna, expressats en U/L; Post-Pnc23: nivells Ac IgG anti-*S.pneumoniae* després de l'administració de la vacuna, expressats en U/L.

**Taula 4.23:** Valors basals i postvacunals (mcg/mL) dels 16 serotips estudiats, determinacions realitzades en una mostra de 14 pacients

Serotip	1	3	4	5	6B	7F	8	9V	14	15B	18C	19A	19F	20	23F	33F
màxim	6,93	5,53	0,78	7,92	3,82	6,86	6,775	2,72	10,51	14,143	5,93	18,29	37,75	6,87	4,05	6,761
mínim	0,00014	0,00011	0,00002	0,00015	0,00007	0,00013	0,00013	0,00005	0,00021	0,00028	0,00012	0,00036	0,00074	0,00013	0,00008	0,00013
P03 <sub>b</sub>	0,24	0,24	0,04	0,34	0,23	0,41	0,26	0,14	1,02	0,77	0,32	0,90	1,42	0,42	0,20	0,44
P03 <sub>p</sub>	0,22	0,24	0,04	0,28	0,22	0,41	0,25	0,14	1,08	0,80	0,31	0,53	1,28	0,42	0,19	0,44
P05 <sub>b</sub>	0,51	0,60	0,11	0,63	0,53	0,97	0,64	0,30	2,31	1,68	0,77	1,81	3,49	0,98	0,54	0,84
P05 <sub>p</sub>	0,68	0,50	0,18	0,80	0,54	1,41	0,79	0,32	2,71	1,80	0,77	1,34	4,20	1,12	0,52	0,89
P06 <sub>b</sub>	0,32	0,48	0,06	0,52	0,33	0,64	0,58	0,19	1,50	1,10	0,50	1,36	4,20	0,64	0,39	0,52
P06 <sub>p</sub>	1,24	0,64	0,12	1,20	0,38	0,95	1,34	>2,72	1,51	1,03	1,67	1,51	8,85	1,75	0,41	0,59
P09 <sub>b</sub>	0,31	0,49	0,04	0,31	0,19	0,37	0,38	0,12	0,79	0,66	0,28	0,85	1,53	0,38	0,19	0,42
P09 <sub>p</sub>	0,82	0,72	0,08	0,58	0,13	0,33	1,13	0,13	0,60	0,76	0,33	0,40	1,03	0,52	0,14	0,32
P10 <sub>b</sub>	0,16	0,56	0,03	1,37	1,10	1,18	>6,775	0,21	1,33	1,95	0,30	1,12	7,09	0,10	0,18	4,50
P10 <sub>p</sub>	0,41	1,23	0,15	7,09	>3,82	3,63	>6,775	0,42	3,03	4,61	0,61	2,46	15,00	0,21	0,38	4,87
P11 <sub>b</sub>	0,16	0,17	0,03	0,21	0,18	0,32	0,21	0,10	0,67	0,53	0,25	0,53	1,13	0,35	0,16	0,31
P11 <sub>p</sub>	0,23	0,21	0,25	0,17	0,11	0,26	1,04	0,34	0,51	0,41	0,19	0,28	1,00	0,35	0,11	0,38
P12 <sub>b</sub>	0,12	0,36	0,05	0,09	0,01	0,82	1,19	0,02	0,02	0,50	0,14	0,31	0,60	0,07	0,02	0,10
P12 <sub>p</sub>	>6,93	0,52	>0,78	2,07	1,15	>6,86	3,69	>2,72	0,89	6,88	3,82	2,50	6,99	3,00	1,15	2,01
P14 <sub>b</sub>	0,10	0,26	0,01	0,05	0,02	0,24	0,37	0,01	0,21	0,21	0,05	0,28	1,74	0,04	0,02	0,20
P14 <sub>p</sub>	0,19	0,26	0,03	0,04	0,02	0,26	0,66	0,01	1,15	0,22	0,18	0,29	1,96	0,34	0,02	0,47
P16 <sub>b</sub>	0,02	0,09	0,00	0,02	0,00	0,01	0,34	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,14	0,01	0,00	0,02
P16 <sub>p</sub>	0,03	0,10	0,01	0,02	0,00	0,01	0,31	0,00	0,00	0,01	0,00	0,07	0,16	0,01	0,00	0,04
P17 <sub>b</sub>	0,67	0,35	0,03	0,27	0,31	0,35	0,26	0,11	0,73	0,59	0,51	0,83	1,35	0,63	0,15	0,44
P17 <sub>p</sub>	1,70	0,28	0,57	2,40	>3,82	0,45	>6,775	1,18	0,56	0,65	0,97	1,96	3,13	4,60	0,33	6,58
P20 <sub>b</sub>	0,28	0,58	>0,78	0,08	>3,82	0,68	0,70	>2,72	1,76	1,28	1,47	1,03	>37,75	0,51	2,78	1,00
P20 <sub>p</sub>	5,56	0,64	>0,78	0,39	>3,82	2,42	6,43	>2,72	4,73	3,77	2,65	2,12	>37,75	1,27	>4,05	3,04
P21 <sub>b</sub>	0,07	0,10	0,00	0,02	0,07	0,34	0,07	0,03	0,05	0,02	0,01	1,68	13,51	0,02	0,02	0,05
P21 <sub>p</sub>	0,31	0,12	>0,78	0,42	0,79	0,54	1,25	0,50	0,28	0,30	0,68	1,90	17,17	0,10	0,50	0,17
P23 <sub>b</sub>	0,35	0,37	0,07	0,43	0,33	0,63	0,40	0,18	1,53	1,08	0,49	0,64	2,37	0,79	0,29	0,60
P23 <sub>p</sub>	0,59	0,30	0,11	0,29	0,25	0,57	1,25	0,19	1,14	0,89	0,48	0,47	2,49	1,34	0,21	1,05
P24 <sub>b</sub>	0,02	0,16	0,00	0,01	0,38	0,09	0,05	0,03	0,55	0,04	0,01	0,10	1,75	0,01	0,23	0,02
P24 <sub>p</sub>	>6,93	1,22	>0,78	1,37	>3,82	0,75	2,78	0,32	2,03	5,42	>5,93	0,30	2,47	0,38	>4,05	0,20



#### 4.2.4 Resultat referents a l'Objectiu específic 4

**Comparació global dels paràmetres obtinguts dels pacients amb IDCv (tant per valorar si la nostra cohort de pacients mostra les característiques descrites a la literatura com per identificar possibles marcadors d'evolució i/o pronòstic). En especial es valoraran en relació al sexe, l'edat d'inici, la classificació pediàtrica de Yong, la classificació pediàtrica de Piatosa i la classificació EUROclass.**

Comparació dels pacients amb IDCv (N = 21) en funció de diferents variables tant per valorar si la nostra cohort de pacients mostra les característiques descrites a la literatura com per identificar possibles marcadors d'evolució i/o pronòstic.

Es realitza l'estudi estadístic per a totes les variables descrites (quantitatives i qualitatives). Es fan constar totes aquelles variables on s'han trobat diferències estadísticament significatives i aquelles que poden tenir interès per al resultat o per estar descrites en publicacions. Les variables que no consten és perquè els resultats no són estadísticament significatius.

##### 1) Comparativa segons el sexe

S'analitza el **Grup 3** de 21 pacients afectes d'IDCV segons el sexe. Hi ha 16 (76,2 %) pacients de sexe masculí i 5 (23,8%) de sexe femení.

En l'anàlisi de les variables quantitatives (edat al primer símptoma, edat al 2n símptoma, edat al primer símptoma infecciós, edat al diagnòstic, retard diagnòstic, edat a l'estudi, IgG, IgM, IgA, subclasses IgG, APRIL, subpoblacions T en valor absolut i en %) no es troben diferències estadísticament significatives. Els resultats es mostren a la **Taula 4.24**.

**Taula 4.24:** Resultats de l'estudi de les variables quantitatives analitzat per sexes

Variables		Masculí N = 16	Femení N = 5	<i>p</i>
<b>Edat al 1r símptoma (anys)</b>	Mediana (rang)	4,63 (0,84-13,61)	3,00 (1,00-11,88)	0,741
<b>Edat al 2n símptoma (anys)</b>	Mediana (rang)	N = 6 6,71 (4,01-15,75)	N = 5 13,05 (2,15-13,39)	0,715
<b>Edat al 1r símptoma infecció (anys)</b>	Mediana (rang)	N = 11 5,98 (0,84-13,61)	N = 4 2,50 (1,00-14,02)	0,601
<b>Edat al diagnòstic (anys)</b>	Mediana (rang)	11,15 (2,60-15,90)	9,18 (7,81-15,88)	0,741
<b>Retard diagnòstic (anys)</b>	Mediana (rang)	5,20 (0,27-9,92)	5,32 (4,00-8,18)	0,680
<b>Edat a l'estudi (anys)</b>	Mediana (rang)	14,22 (3,53-21,97)	18,14 (8,24-22,78)	0,215
<b>IgG normalitzada</b>	Mediana (rang)	-3,04 (-5,01/-2,46)	-2,78 (-4,02/-2,07)	0,364
<b>IgA normalitzada</b>	Mediana (rang)	-2,26 (-3,21/3,21)	-2,72 (-2,95/-2,04)	0,620
<b>IgM normalitzada</b>	Mediana (rang)	-2,28 (-3,03/-1,58)	-1,81 (-2,60/-1,41)	0,283
<b>IgG<sub>1</sub> normalitzada</b>	Mediana (rang)	-2,45 (-3,61/-1,52)	-2,69 (-2,94/-1,32)	0,694
<b>IgG<sub>2</sub> normalitzada</b>	Mediana (rang)	-2,32 (-2,94/-1,64)	-2,51 (-2,68/-0,46)	0,541
<b>IgG<sub>3</sub> normalitzada</b>	Mediana (rang)	-1,63 (-2,36/-0,77)	-1,23 (-1,84/-0,38)	0,150
<b>IgG<sub>4</sub> normalitzada</b>	Mediana (rang)	-1,99 (-2,06/-1,54)	-2,00 (-2,05/-1,84)	0,760
<b>APRIL (ng/mL)</b>	Mediana (rang)	6,92 (0,77-48,28)	13,89 (2,88-17,52)	0,620

Per a la resta de variables trobem diferències estadísticament significatives per a: antecedents familiars de neoplàsia, malaltia autoimmunitària, citopènia autoimmunitària, presentar 2 o més malalties autoimmunitàries, presentar malaltia autoimmunitària organoespecífica i citopènia, TC toràcica alterada per IDCV, LIP, grup mal pronòstic 1, limfoprolifерació policlonal, fenotip només infeccions (2008), fenotip clínic no complicat (2012), pertànyer a 1 únic fenotip clínic (2008 i 2012), limfopènia i limfopènia B en valors absoluts. El 100% de les pacients de sexe femení presenten malaltia autoimmunitària, el 80 % citopènia. El 60 % associen 2 o més malalties autoimmunitàries i el 40 % tenen malaltia autoimmunitària organoespecífica i citopènia. També el 40 % de les dones presenten pneumònia intersticial limfocítica i el 60% limfoprolifерació policlonal respecte el 0% en el grup de sexe masculí. En l'anàlisi de poblacions limfoides en valors absoluts el 80 % tenen limfopènia i limfopènia B i el 60 % limfopènia T en el grup de sexe femení. Respecte als fenotips clínics 2008 i 2012 cap de les pacients pertany al fenotip de només infeccions o no complicat, el 20% i el 40% de les pacients tenen només 1 fenotip del 2008 i 1 fenotip del 2012. El 80% de les dones pertanyen al grup de mal pronòstic 1 respecte al 18,75% dels pacients de sexe masculí. (Dades a **Taula 4.25**).

Algunes variables qualitatives mostren tendència a significació estadística com: presentar hiperplàsia limfoide ( $p$  0,075), adenopaties persistents ( $p$  0,067), estudi proliferació alterada ( $p$  0,060), pertànyer al grup mal pronòstic 2 ( $p$  0,055) o presentar limfòcits T en valors absolut baixos ( $p$  0,075).

**Taula 4.25:** Resultats destacables de l'estudi de les variables qualitatives analitzat per sexes

Variables		Masculí N = 16	Femení N = 5	<i>p</i>
<b>A. familiars de neoplàsia</b>	Nombre (%)	0/15 (0)	2/5 (40)	0,010
<b>Malaltia AI</b>	Nombre (%)	7 (43,75)	5 (100)	0,027
<b>Citopènia autoimmunitària</b>	Nombre (%)	1 (6,25)	4 (80)	0,001
<b>Malaltia AI ≥ 2</b>	Nombre (%)	1 (6,25)	3 (60)	0,008
<b>Malaltia OE + CIT</b>	Nombre (%)	0 (0)	2 (40)	0,008
<b>TC pulmonar alterat x IDCV</b>	Nombre (%)	1/9 (11,1)	3/4 (75)	0,021
<b>LIP</b>	Nombre (%)	0 (0)	2 (40)	0,008
<b>Mal pronòstic 1</b>	Nombre (%)	3 (18,75)	4 (80)	0,011
<b>Limfoproliferaió policlonal</b>	Nombre (%)	0 (0)	3 (60)	0,001
<b>Fenotip no complicat 2012</b>	Nombre (%)	14 (87,5)	0 (0)	0,000
<b>1 fenotip 2012</b>	Nombre (%)	16 (100)	2 (40)	0,001
<b>Fenotip només infeccions 2008</b>	Nombre (%)	8 (50)	0 (0)	0,044
<b>1 fenotip 2008</b>	Nombre (%)	15 (93,75)	1 (20)	0,001
<b>Limfopènia</b>	Nombre (%)	3 (18,75)	4 (80)	0,011
<b>Limfopènia B (valor absolut)</b>	Nombre (%)	4 (25)	4 (80)	0,027
Hiperplàsia limfoide	Nombre (%)	3 (18,75)	3 (60)	0,075
Adenopaties persistents	Nombre (%)	0 (0)	1 (20)	0,067
Proliferaió alterada	Nombre (%)	1 (6,25)	2 (40)	0,060
Mal pronòstic 2	Nombre (%)	5 (31,25)	4 (80)	0,055
Limfopènia T (valor absolut)	Nombre (%)	3 (18,75)	3 (60)	0,075

AI: autoimmunitària; OE: organoespecífica; CIT: citopènia autoimmunitària; TC: tomografia computada; LIP: pneumònia intersticial limfocítica.

## 2) Comparativa en funció de la classificació pediàtrica de Yong

Es divideix el **Grup 3** entre pertànyer al Grup I o al Grup II de la classificació pediàtrica proposada per Yong (32) i es realitza l'anàlisi comparatiu entre els 2 grups. En el Grup I es classifiquen 14 pacients (66,6%) i els altres 7 (33,3%) pertanyen al Grup II.

A la **Taula 4.26** es mostren resultats respecte les característiques de filiació dels pacients, així com, de l'inici de símptomes, edat al diagnòstic, retard diagnòstic i comparativa entre valors d'immunoglobulines al diagnòstic. Hi ha un predomini de pacients de sexe masculí als 2 grups, tampoc es troben diferències entre grups en quan a raça, consanguinitat ni antecedents familiars dels pacients. Referent a l'edat en: el primer símptoma, el primer símptoma infecciós, el diagnòstic i l'estudi, i en el retard diagnòstic no es troben diferències entre grups. En quant a les immunoglobulines, la IgM, la IgG<sub>2</sub> i IgG<sub>4</sub> presenten valors inferiors en els pacients del Grup II amb  $p$  de 0,062, 0,053 i 0,048, respectivament. El 50% dels pacients del Grup I presenten disminució d'IgG i IgA, mentre que la majoria de pacients del Grup II (71,43%) presenten disminució de les 3 immunoglobulines.

En l'anàlisi de poblacions limfoides trobem diferències estadísticament significatives en quan als limfòcits B memòria commutat que són el motiu de classificació en els 2 grups. També trobem un major nombre de pacients amb limfòcits B de memòria, limfòcits T i limfòcits T CD8 absoluts disminuïts en el Grup I respecte el Grup II amb diferències estadísticament significatives en els 2 primers ( $p$  de 0,035, 0,040 i 0,070, respectivament). Respecte a les manifestacions clíniques trobem infeccions significatives en la majoria dels pacients d'ambdós grups, per a la resta de variables hi ha major percentatge en els pacients del Grup I, excepte per citopènia, enteropatia, neoplàsia i adenopaties persistents. Només hi ha diferències estadísticament significatives pel fet d'haver presentat pneumònia sent en el 64,28% dels pacient del Grup I i el 14,28% en el Grup II amb una  $p$  de 0,031. (Dades a la **Taula 4.27**).

**Taula 4.26:** Comparativa entre el Grup I i el Grup II segons característiques de filiació i al diagnòstic

Variables		Grup I N = 14	Grup II N = 7	p
<b>Sexe masculí</b>	Nombre (%)	10/14 (71,4)	6/7 (85,7)	0,469
<b>Raça caucàsica</b>	Nombre (%)	13 (92,8)	7 (100)	0,469
<b>Consanguinitat</b>	Nombre (%)	1 (7,14)	0 (0)	0,452
<b>A. familiar de malaltia AI</b>	Nombre (%)	2 (14,28)	4 (57,14)	0,052
<b>Edat al 1r símptoma (anys)</b>	Mediana (rang)	4,59 (0,84-13,61)	4,23 (2,08-10,17)	0,941
<b>Edat al 1r símptoma infecció (anys)</b>	Mediana (rang)	N= 10 4,99 (0,84-14,02)	N= 5 4,23 (2,08-10,17)	0,902
<b>Edat al diagnòstic (anys)</b>	Mediana (rang)	11,53 (2,60-15,90)	9,63 (6,28-15,18)	0,502
<b>Retard diagnòstic (anys)</b>	Mediana (rang)	5,63 (0,27-9,92)	5,01 (2,28-7,64)	0,550
<b>Edat a l'estudi (anys)</b>	Mediana (rang)	15,70 (3,53-22,78)	17,77 (8,05-19,52)	0,881
<b>IgG normalitzada</b>	Mediana (rang)	-2,96 (-4,30/-2,07)	-3,10 (-5,01/-2,46)	0,765
<b>IgA normalitzada</b>	Mediana (rang)	-2,52 (-3,21/3,21)	-2,66 (-3,03/-1,68)	0,941
<b>IgM normalitzada</b>	Mediana (rang)	-2,06 (-3,03/-1,41)	-2,58 (-2,81/-1,98)	0,062
<b>IgG<sub>1</sub> normalitzada</b>	Mediana (rang)	-2,51 (-2,95/-1,32)	-2,41 (-3,61/-1,76)	0,869
<b>IgG<sub>2</sub> normalitzada</b>	Mediana (rang)	-2,21 (-2,68/-0,46)	-2,56 (-2,94/-2,19)	0,053
<b>IgG<sub>3</sub> normalitzada</b>	Mediana (rang)	-1,65 (-2,26/-0,38)	-1,60 (-2,36/-0,51)	0,934
<b>IgG<sub>4</sub> normalitzada</b>	Mediana (rang)	-1,99 (-2,05/-1,54)	-2,04 (-2,06/-1,95)	0,048
<b>Dèficit IgG + IgA</b>	Nombre (%)	7 (50)	1 (14,28)	0,112
<b>Dèficit IgG + IgM</b>	Nombre (%)	3 (21,42)	1 (14,28)	0,694
<b>Dèficit IgG + IgA + IgM</b>	Nombre (%)	4 (28,57)	5 (71,43)	0,061

AI: autoimmunitària.

**Taula 4.27:** Comparativa entre el Grup I i el Grup II segons característiques clíniques, poblacions limfoides, PCR a herpesvirus humà 6, 7 i 8 i APRIL.

Variables		Grup I (N = 14)	Grup II (N = 7)	p
<b>Infecció significativa</b>	Nombre (%)	10 (71,43)	5 (71,43)	1,000
<b>Pneumònia</b>	Nombre (%)	9 (64,28)	1 (14,28)	0,031
<b>Infecció pulmonar significativa</b>	Nombre (%)	10 (71,43)	2 (28,57)	0,061
<b>Malaltia autoimmunitària</b>	Nombre (%)	9 (64,28)	3 (42,86)	0,350
<b>Citopènia autoimmunitària</b>	Nombre (%)	3 (21,42)	2 (28,57)	0,717
<b>Malaltia AI organoespecífica</b>	Nombre (%)	8 (57,14)	1 (14,28)	0,061
<b>Malaltia autoimmunitària &gt;1</b>	Nombre (%)	4 (28,57)	0 (0)	0,116
<b>Enteropatia</b>	Nombre (%)	0 (0)	1 (14,28)	0,147
<b>Malaltia pulmonar crònica</b>	Nombre (%)	4 (28,57)	0 (0)	0,116
<b>Bronquièctasi</b>	Nombre (%)	1 (7,14)	0 (0)	0,469
<b>LIP</b>	Nombre (%)	2 (14,28)	0 (0)	0,293
<b>Asma no al·lèrgica</b>	Nombre (%)	1 (7,14)	0 (0)	0,469
<b>TC toràcica alterada x IDCV</b>	Nombre (%)	3/8 (37,5)	1/5 (20)	0,506
<b>Neoplàsia</b>	Nombre (%)	1 (7,14)	1 (14,28)	0,599
<b>Esplenomegàlia</b>	Nombre (%)	4 (28,57)	1 (14,28)	0,573
<b>Adenopaties persistents</b>	Nombre (%)	0 (0)	1 (14,28)	0,147
<b>Hiperplàsia limfoide</b>	Nombre (%)	4 (28,57)	2 (28,57)	1,000
<b>Al·lèrgia</b>	Nombre (%)	3 (21,42)	1 (14,28)	0,694
<b>Limfopènia</b>	Nombre (%)	6 (42,86)	1 (14,28)	0,190
<b>Limfopènia B (%)</b>	Nombre (%)	6 (42,86)	2 (28,57)	0,525
<b>Limfopènia B (absoluts)</b>	Nombre (%)	7 (50)	1 (14,28)	0,112
<b>LB memòria baixos (%)</b>	Nombre (%)	10 (71,43)	4 (57,14)	0,513
<b>LB memòria baixos (absoluts)</b>	Nombre (%)	14 (100)	5 (71,43)	0,035
<b>LB memòria commutats &lt;2%</b>	Nombre (%)	10 (71,43)	0 (0)	0,002
<b>LB memòria commutats baixos (absoluts)</b>	Nombre (%)	14 (100)	4 (57,14)	0,008
<b>LB memòria commutats &lt;5</b>	Nombre (%)	14 (100)	0 (0)	0,000
<b>Limfopènia T (absoluts)</b>	Nombre (%)	6 (42,86)	0 (0)	0,040
<b>Limfopènia T CD8 (absoluts)</b>	Nombre (%)	5 (35,71)	0 (0)	0,070
<b>EUROclass SmB-</b>	Nombre (%)	10 (71,43)	0 (0)	0,002
<b>Herpesvirus humà 7 positiu (cèl·lules)</b>	Nombre (%)	0/11 (0)	1/3 (33,33)	0,047
<b>Herpesvirus humà 6, 7 o 8 positius (plasma o cèl·lules)</b>	Nombre (%)	0/11 (0)	1/4 (25)	0,086
<b>APRIL (ng/mL)</b>	Mediana (rang)	6,84 (0,77-46,97)	12,32 (2,88-48,28)	0,205

AI: autoimmunitària; TC: tomografia computada; LIP: pneumònia intersticial limfocítica.

### 3) Comparativa segons la classificació pediàtrica de Piatosa

Els 21 pacients queden dividits segons la classificació de Piatosa en: 2 al Grup I, 4 al Grup II, 7 al Grup III, 6 als Grup IV, cap pacient al Grup V i 2 al Grup VI. Dels 2 pacients al Grup I un és de sexe femení (l'edat al primer símptoma 11,88 anys, el retard en el diagnòstic de 4,00 anys i l'edat al diagnòstic de la IDCV de 15,88 anys) i l'altre masculí (l'edat al primer símptoma de 5,76 anys, el retard en el diagnòstic de 5,01 anys i l'edat al diagnòstic de la IDCV de 10,78 anys). Els 2 pacients dels Grup VI són de sexe masculí, les edats al primer símptoma són 4,14 i 10,17 anys, el retard en el diagnòstic de 5,01 i 7,41 anys i l'edat al diagnòstic de la IDCV de 11,55 i 15,18 anys. Aquest 2 grups no s'analitzen pel baix nombre de pacients.

Es realitza la comparativa entre els pacients del Grup II amb el III i amb el IV, i del Grup III amb el IV. Només es troben diferències estadísticament significatives per a 2 variables: presentar al·lèrgia en el Grup II respecte el III (2/4 i 0/7 pacients,  $p$  0,039) i hiperplàsia limfoide en el Grup II respecte el Grup IV (0/4 i 4/6,  $p$  0,035). En la resta de variables analitzades (edat al 1r, 2n i 3r símptoma, edat al diagnòstic de la IDCV, retard en el diagnòstic, 1r símptoma infecció, edat 1a infecció, sexe, edat d'inici abans dels 5 o 10 anys, IgG, IgA i IgM normalitzades, subclasses IgG normalitzades, valor APRIL, limfopènia, IgA baixa, disminució IgG i IgA, disminució IgG i IgM, disminució IgG, IgA i IgM, estancament pondoestatural, infeccions significatives, pneumònia, malaltia autoimmunitària, citopènia, malaltia autoimmunitària organoespecífica, enteropatia, adenopaties persistents, bronquièctasi, pneumònia intersticial limfoide, mal pronòstic 1 i 2, neoplàsia) no es troben diferències.



**Taula 4.28:** Anàlisi dels pacients per subgrups segons defecte maduració cèl·lules B

Variables		Grup II N = 4	Grup III N = 7	Grup IV N = 6
<b>Sexe femení</b>	Nombre (%)	0 (0)	1 (14,3)	3 (50)
<b>Edat al 1r símptoma (anys)</b>	Mediana (rang)	5,00 (0,84-13,61)	4,01 (0,84-13,09)	3,61 (1,00-9,33)
<b>Retard diagnòstic (anys)</b>	Mediana (rang)	2,02 (1,53-7,64)	6,48 (0,53-9,92)	5,35 (0,27-8,18)
<b>Edat diagnòstic IDCV (anys)</b>	Mediana (rang)	9,96 (2,60-15,14)	11,52 (6,34-15,90)	8,75 (6,88-14,43)
<b>Infeccions significatives</b>	Nombre (%)	3 (75)	5 (71,4)	6 (100)
<b>Enteropatia</b>	Nombre (%)	0 (0)	0 (0)	1 (16,7)
<b>Malaltia autoimmunitària (AI)</b>	Nombre (%)	2 (50)	4 (57,1)	4 (66,7)
<b>Citopènia autoimmunitària</b>	Nombre (%)	1 (25)	1 (14,3)	2 (33,3)
<b>Malaltia AI organoespecífica</b>	Nombre (%)	1 (25)	4 (57,1)	3 (50)
<b>LIP</b>	Nombre (%)	0 (0)	0 (0)	1 (16,7)
<b>Bronquièctasi</b>	Nombre (%)	1 (25)	0 (0)	0 (0)
<b>Adenopaties persistents</b>	Nombre (%)	0 (0)	0 (0)	1 (16,7)
<b>Hiperplàsia limfoide</b>	Nombre (%)	0 (0)^	2 (28,6)	4 (66,7)^
<b>Al·lèrgia</b>	Nombre (%)	2 (50)*	0 (0)*	1 (16,7)
<b>Neoplàsia</b>	Nombre (%)	1 (25)	0 (0)	0 (0)

\*: diferència estadísticament significativa entre el Grup II i el III; ^: diferència estadísticament significativa entre el Grup II i el IV.

#### 4) Comparativa segons els grups de l'EUROclass

Els 21 pacients queden distribuïts en 5 dels grups de l'EUROclass:

- smB+: 11/21 pacients (52,38%)
  - smB+ CD21<sup>norm</sup>: 6 pacients (28,57%)
  - smB+ CD21<sup>lo</sup>: 5 pacients (23,81%)
- smB-: 10/21 pacients (47,62%)

- smB- Tr<sup>norm</sup> CD21<sup>norm</sup>: 6 pacients (28,57%)
- smB- Tr<sup>norm</sup> CD21<sup>lo</sup>: 2 pacients (9,52%)
- smB- Tr<sup>hi</sup> CD21<sup>norm</sup>: 2 pacients (9,52%).

Es comparen els grups: smB+ amb smB- i smB- Tr<sup>hi</sup>, smB- Tr<sup>hi</sup> amb smB- Tr<sup>norm</sup>, smB+ CD21<sup>norm</sup> amb smB+ CD21<sup>lo</sup> i smB- CD21<sup>lo</sup> i smB- CD21<sup>norm</sup> amb smB- CD21<sup>lo</sup>.

Es troben diferències estadísticament significatives en el grup de smB+ CD21<sup>norm</sup> comparat amb el smB+ CD21<sup>lo</sup> pel fet de tenir malaltia autoimmunitària (2/6 front 5/5 amb  $p$  0,022). Per a la resta de variables analitzades: sexe, inici dels símptomes abans dels 5 o 10 anys, 1r símptoma infecció, neoplàsia, citopènia, pneumònia intersticial limfocítica, esplenomegàlia, adenopaties persistents, hiperplàsia limfoide i infeccions significatives no es troben diferències estadísticament significatives entre cap dels grups. Tampoc per a malaltia autoimmunitària en la resta de grups.

## 5) Comparativa segons l'edat d'inici

S'estableix l'edat d'inici dels símptomes per sota dels 5 i dels 10 anys per valorar possible importància de presentar un o altre fenotip clínic o immunològic.

En l'anàlisi dels pacients que inicien la clínica per sota dels 5 anys comparat amb els que l'inicien després trobem 11/21 (52,38 %) pacients al primer grup i 10/21 (47,62 %) al segon. Quan el punt de tall s'estableix als 10 anys: 17/21 (80,95 %) pacients inicien per sota dels 10 anys i 4/21 (19,05%) a partir dels 10 anys.

Es realitza estudi estadístic per a les següents variables: sexe, 1r símptoma infecció, neoplàsia, malaltia autoimmunitària, citopènia, pneumònia intersticial limfocítica, esplenomegàlia, adenopaties persistents, hiperplàsia limfoide, infeccions significatives, IgA disminuïda, al·lèrgia, malaltia autoimmunitària organoespecífica i citopènia, mal pronòstic 1 i 2, malaltia pulmonar crònica, asma no al·lèrgica, bronquièctasi, pneumònia, TC alterada per IDCV, estancament pondoestatural, limfoproliferació policlonal, dèficit IgA i IgG, dèficit IgG i IgM, dèficit de les 3 immunoglobulines, limfopènia, productor alt de

MBL, classificació pediàtrica, pertànyer al grup smB- o smBCD21<sup>lo</sup> o Tr<sup>hi</sup> respecta la resta, fenotip només infecció 2008 i fenotip no complicat 2012.

Quan el nivell de tall s'estableix als 5 anys trobem diferències estadísticament significatives per als pacients amb malaltia autoimmunitària organoespecífica, per pertànyer al grup de només infeccions (2008), en l'edat al 1r símptoma infecció i en l'edat al diagnòstic, sense diferències en el retard al diagnòstic. En el nivell de tall als 10 anys trobem diferències significatives per a l'asma no al·lèrgica ( $p$  de 0,035), en l'edat al 1r símptoma infecció ( $p$  de 0,030), en l'edat al diagnòstic ( $p$  de 0,012) i en el retard al diagnòstic ( $p$  de 0,028) sent menor el retard en els que inicien els símptomes a partir dels 10 anys d'edat. Els pacients que inicien els símptomes amb menys de 10 anys tenen valors d'IgG menors al diagnòstic, més percentatge de malaltia autoimmunitària específica d'òrgan i menor percentatge de pacients amb fenotip només infecció (2008) respecte als que inicien a partir dels 10 anys. Resultats a la **Taula 4.29**.

**Taula 4.29:** Característiques pacients segons inici de símptomes abans dels 5 o 10 anys

Variables		Inici < 5 anys N = 11	Inici ≥ 5 anys N = 10	p
Sexe masculí	Nombre (%)	8 (72,72)	8 (80)	0,696
Edat al 1r símptoma infecció	Mediana (rang)	N = 8 2,04 (0,84-4,23)	N = 7 10,17 (5,98- 14,02)	0,001
Edat al diagnòstic IDCV (anys)	Mediana (rang)	8,32 (2,60-12,51)	14,03 (7,41-15,90)	0,002
Retard en el diagnòstic (anys)	Mediana (rang)	5,46 (1,76-8,50)	5,01 (0,27-9,92)	0,205
IgG normalitzada	Mediana (rang)	-2,97 (-4,11/-2,50)	-3,08 (-5,01/-2,07)	0,573
Malaltia autoimmunitària (AI)	Nombre (%)	8 (72,72)	4 (40)	0,130
Malaltia AI organoespecífica	Nombre (%)	7 (63,63)	2 (20)	0,044
Citopènia autoimmunitària	Nombre (%)	2 (18,18)	3 (30)	0,525
Fenotip només infeccions 2008	Nombre (%)	2 (9,52)	6 (60)	0,049
Fenotip no complicat 2012	Nombre (%)	8 (72,72)	7 (70)	0,890
Asma no al·lèrgica	Nombre (%)	0 (0)	1 (10)	0,283
Variables		Inici < 10 anys N = 17	Inici ≥ 10 anys N = 4	p
Sexe masculí	Nombre (%)	13 (76,47)	3 (75)	0,950
Edat al 1r símptoma infecció	Mediana (rang)	N = 12 3,50 (0,84-14,02)	N = 3 13,09 (10,17-13,61)	0,030
Edat al diagnòstic IDCV (anys)	Mediana (rang)	9,18 (2,60-15,90)	15,16 (13,62-15,88)	0,012
Retard en el diagnòstic (anys)	Mediana (rang)	5,46 (0,27-9,92)	2,76 (0,53-5,01)	0,028
IgG normalitzada	Mediana (rang)	-3,10 (-5,01/-2,50)	-2,60 (-3,20/-2,07)	0,060
Malaltia autoimmunitària (AI)	Nombre (%)	11 (64,70)	1 (25)	0,149
Malaltia AI organoespecífica	Nombre (%)	9 (52,94)	0 (0)	0,054
Citopènia autoimmunitària	Nombre (%)	4 (23,53)	1 (25)	0,980
Fenotip només infeccions 2008	Nombre (%)	5 (29,41)	3 (75)	0,091
Fenotip no complicat 2012	Nombre (%)	12 (70,59)	3 (75)	0,861
Asma no al·lèrgica	Nombre (%)	0 (0)	1 (25)	0,035

#### 4.2.5 Resultat referents a l'Objectiu específic 5

Revaluar les opcions de base genètica de cada pacient (com la IDCV és un diagnòstic d'exclusió sabem que hi ha heterogeneïtat d'opcions); en aquest sentit els objectius específics són:

1) Realitzar l'estudi genètic del nostre grup de pacients per identificar variants/mutacions que permetin confirmar el seu diagnòstic d'IDCV o poder reclassificar-lo en les noves entitats que van apareixent

Resultats de l'estudi genètic.

Es realitza estudi amb genotipat d'alta densitat per a la detecció de variants genètiques estructurals i regions d'alta homozigositat i seqüenciació de l'exoma complet als 25 pacients. A la **Taula 4.30** es mostren les variants trobades en els 83 gens candidats (*ACP5, AICDA, AIRE, ANP32B, BCL2, BLNK, BTK, BTLA, CARD11, CASP8, CD19, CD20, CD22, CD24, CD27, CD274, CD276, CD37, CD38, CD40, CD40LG, CD5, CD72, CD74, CD79A, CD79B, CD81, CD84, CD93, CECR1, CLEC16A, CR2, CTLA4, DOCK8, FCER2, FOXP3, ICOS, ICOSLG, IGHM, IGKC, IGLL1, IKZK1, IL10, IL10RA, IL10 RB, IL12, IL21, IL21R, IL21RA, IL3, IL4, IL4R, INFG, ITCH, LRBA, MBL2, MS4A1, NFKB1, NFKB2, NOD2, PDCD1, PDCD1LG2, PIK3CD, PIK3R1, PLCG2, PMS2, PRKCD, RAG2, SERPINA1, SH2D1A, STAT1, STAT3, TNFRSF13B, TNFRSF13C, TNFRSF17, TNFSF10, TNFSF12, TNFSF13, TNFSF13B, UNC93B1, UNG, VDR, XIAP*) una vegada aplicats una sèrie de filtres. S'apliquen filtres de qualitat (per eliminar errors de seqüenciació o de mapping), es seleccionen les variants funcionals i es filtren les variants que apareixen en les bases de dades del GMAG i ESP5400 amb una freqüència superior a l'1%.

**Taula 4.30:** Variants codificants detectades amb l'anàlisi de l'exoma

	Chr	Posició	ref	alt	SIFT	Polyphen	rs	esp5400_all	GMAF	Efecte funcional	Gen	Genotip
<b>P01</b>												
<b>P02</b>	chr1	160523750	G	A	0,03	0	rs146076557	0,000279	0	NON_SYNONYMOUS_CODING (T78M_CD84)	CD84	0/1
	chr16	11114170	C	T	0,1	0	rs74163614	0,000596	0,0009	NON_SYNONYMOUS_CODING (T475M_CLEC16A)	CLEC16A	0/1
<b>P03</b>												
<b>P04</b>	chr9	289577	C	T	0,85	0,996	0	0,000093	0	NON_SYNONYMOUS_CODING (R66W_DOCK8)	DOCK8	0/1
<b>P05</b>	chr20	23065584	C	T	0,68	0,008	rs144703062	0,006507	0,0055	NON_SYNONYMOUS_CODING (V416I_CD93)	CD93	0/1
<b>P06</b>												
<b>P07</b>												
<b>P08</b>	chr1	207651294	G	A	0,65	0,068	rs146465618	0,000093	0,0005	NON_SYNONYMOUS_CODING (M989I_CR2)	CR2	0/1
	chr7	2951811	C	T	0,8	0,118	rs146334064	0,000465	0,0005	NON_SYNONYMOUS_CODING (A1047T_CARD11)	CARD11	0/1
<b>P09</b>	chr16	50763778	GCCC	GCCCC	0	0	0	0	0	FRAME_SHIFT(_NOD2)	NOD2	0/1
	chr16	11073195	C	T	0,99	NA	rs74163607	0,000201	0,0005	NON_SYNONYMOUS_CODING (R305W_CLEC16A)	CLEC16A	0/1
<b>P10</b>	chr9	5534924	C	G	0,32	0,006	rs56072800	0,004834	0,0018	NON_SYNONYMOUS_CODING (Q79E_PDCD1LG2)	PDCD1LG2	0/1
	chr17	16852187	A	G	1	0,988	rs34557412	0,003997	0,0032	NON_SYNONYMOUS_CODING (C58R_TNFRSF13B)	TNFRSF13B	0/1
<b>P11</b>	chr2	191862645	C	T	0,95	0,146	rs146273341	0,000465	0	NON_SYNONYMOUS_CODING (R243Q_STAT1)	STAT1	0/1
<b>P12</b>	chr11	60892540	C	T	0,99	0,979	0	0	0	NON_SYNONYMOUS_CODING (S439F_CD5)	CD5	0/1
	chr16	81939089	T	C	0,93	0,836	rs187956469	0,002838	0,0032	NON_SYNONYMOUS_CODING (Y482H_PLCG2)	PLCG2	0/1
	chr16	81942175	A	G	0,98	0,001	rs75472618	0,007067	0,0064	NON_SYNONYMOUS_CODING (N571S_PLCG2)	PLCG2	0/1
<b>P13</b>	chr4	151392836	G	A	0	NA	0	0	0	STOP_GAINED (R2214*_LRBA)	LRBA	1/1
	chr9	396836	C	T	1	1	rs16937932	0,00409	0,0032	NON_SYNONYMOUS_CODING (R976W_DOCK8)	DOCK8	0/1
<b>P14</b>	chr19	49842185	T	G	0,99	0,999	0	0	0	NON_SYNONYMOUS_CODING (Y226D_CD37)	CD37	0/1
	chr16	11038605	G	A	1	1	rs202188885	0	0	NON_SYNONYMOUS_CODING (G11R_CLEC16A)	CLEC16A	0/1
	chr9	377046	G	A	0,95	0,609	rs148693111	0,000186	0	NON_SYNONYMOUS_CODING (V759M_DOCK8)	DOCK8	0/1
<b>P15</b>	chr5	67589663	G	C	0	0	0	0	0	SPICE_SITE_DONOR (_PIK3R1)	PIK3R1	0/1
	chr21	45649714	C	T	0	0	rs117082851	0	0,0069	NON_SYNONYMOUS_CODING (R374Q_ICOSLG)	ICOSLG	0/1
<b>P16</b>	chr7	2952993	C	T	0,56	0	0	0,000093	0	NON_SYNONYMOUS_CODING (V983M_CARD11)	CARD11	0/1
	chr16	27373833	C	T	0,96	0,021	rs6413500	0,003997	0,0009	NON_SYNONYMOUS_CODING (S387L_IL4R)	IL4R	0/1

<b>P17</b>	chr7	2976742	G	A	0,97	0,953	0	0	0	NON_SYNONYMOUS_CODING (R424W_CARD11)	CARD11	0/1
<b>P18</b>	chr21	45649785	C	A	0,07	0	0	0	0	NON_SYNONYMOUS_CODING (W350C_ICOSLG)	ICOSLG	0/1
	chr17	16852187	A	G	1	0,988	rs34557412	0,003997	0,0032	NON_SYNONYMOUS_CODING (C58R_TNFRSF13B)	TNFRSF13B	0/1
	chr10	97983635	C	A	0,65	0	rs148612299	0,00567	0,0055	NON_SYNONYMOUS_CODING (A158S_BLNK)	BLNK	0/1
<b>P19</b>												
<b>P20</b>	chr19	42383114	G	C	0,78	0,902	rs199603062	0	0	NON_SYNONYMOUS_CODING (S45T_CD79A)	CD79A	0/1
	chr1	207644782	G	A	0,7	0,006	0	0	0	NON_SYNONYMOUS_CODING (G503E_CR2)	CR2	0/1
	chr9	312088	C	A	0	0	rs139391329	0,00251	0	NON_SYNONYMOUS_CODING (D221E_DOCK8)	DOCK8	0/1
	chr16	81942175	A	G	0,98	0,001	rs75472618	0,007067	0,0064	NON_SYNONYMOUS_CODING (N571S_PLCG2)	PLCG2	0/1
<b>P21</b>												
<b>P22</b>	chr2	204735540	TC	T	0	0	0	0	0	FRAME_SHIFT (_CTLA4)	CTLA4	0/1
	chr19	7763669	C	T	0,43	0,002	rs138917660	0,002887	0,0014	NON_SYNONYMOUS_CODING (A32T_FCER2)	FCER2	0/1
<b>P23</b>	chr11	67771444	C	T	0,66	0,96	0	0	0	NON_SYNONYMOUS_CODING (G24R_UNC93B1)	UNC93B1	0/1
	chr4	103432090	A	G	0	0	rs188317269	0	0,0027	START_LOST (M1V_NFKB1)	NFKB1	0/1
	chr17	16852187	A	G	1	0,988	rs34557412	0,003997	0,0032	NON_SYNONYMOUS_CODING (C58R_TNFRSF13B)	TNFRSF13B	1/1
	chr19	11685989	G	A	0,94	0,966	rs147025508	0,00409	0,0032	NON_SYNONYMOUS_CODING (R272C_ACP5)	ACP5	0/1
<b>P24</b>	chr4	103505978	G	T	0	0	0	0	0	SPLICE_SITE_DONOR (_NFKB1)	NFKB1	0/1
	chr11	117857529	G	A	0	0	rs74942348	0	0,0082	SPLICE_SITE_DONOR (_IL10RA)	IL10RA	0/1
	chr7	6026685	G	T	0,81	0,003	rs63750055	0,006786	0,0082	NON_SYNONYMOUS_CODING (L571I_PMS2)	PMS2	0/1
<b>P25</b>	chr16	50745945	G	A	0,91	0,942	rs35285618	0,007721	0,0041	NON_SYNONYMOUS_CODING (R708H_NOD2)	NOD2	0/1
	chr7	6026685	G	T	0,81	0,003	rs63750055	0,006786	0,0082	NON_SYNONYMOUS_CODING (L571I_PMS2)	PMS2	0/1
	chr15	74003518	A	C	0	0	rs113886803	0,01134	0,0087	NON_SYNONYMOUS_CODING (D530A_CD276)	CD276	1/1
	chr16	11272227	C	T	0,75	NA	rs61744103	0,014256	0,0092	NON_SYNONYMOUS_CODING (L948F_CLEC16A)	CLEC16A	0/1

Chr: cromosoma; ref: referència; alt: alterat; SIFT: valor predictiu de l'efecte funcional de la variant sobre la proteïna; PolyPhen: valor predictiu de l'efecte funcional de la variant sobre la proteïna; rs: SNP de referència; esp5400\_all: freqüència de la variant genètica a la base de dades del Exome Variant Server (<http://evs.gs.washington.edu/EVS/>); GMAF: freqüència de la variant genètica a la base de dades del The 1000 Genomes Project (<http://www.1000genomes.org/>).

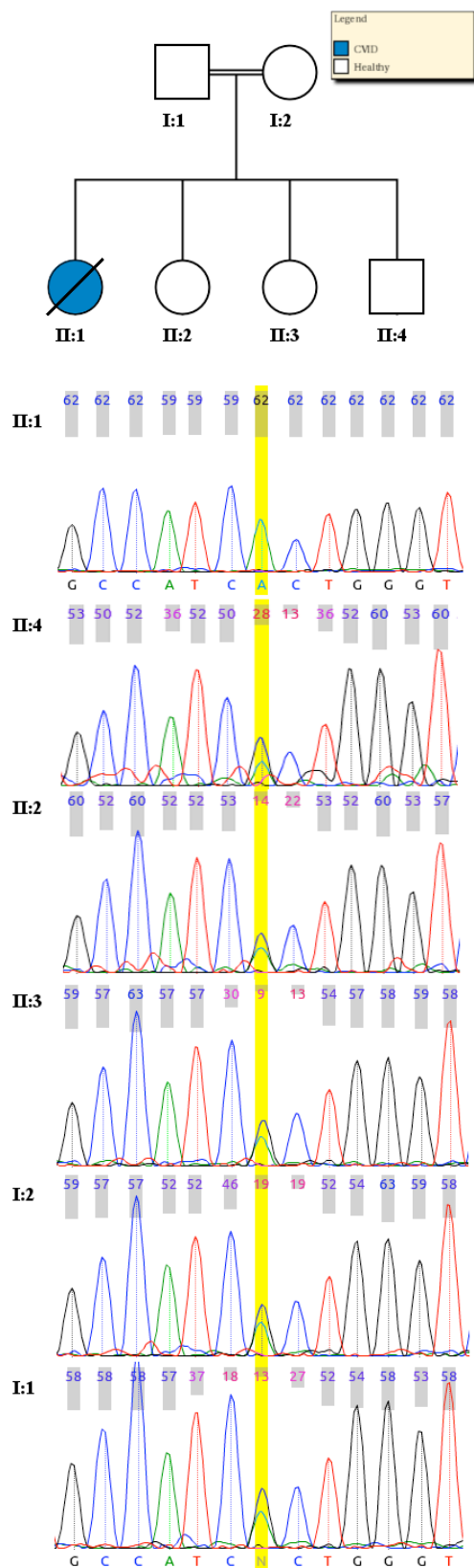
L'estudi permet identificar 3 pacients amb variants causants de malaltia: **P13** en el gen *LRBA*, **P15** en el *PIK3R1* i **P22** en el *CTLA4*. Un 4t pacient, **P23**, amb variant a *TNFRSF13B* en homozigosi.

Aquestes variants s'han comprovat per seqüenciació per Sanger.

**P13:** Detectada variant del gen *LRBA* que consisteix en un canvi de nucleòtid (Chr4:151392836G>A (hg19)) en homozigosi, és una mutació que introdueix un codó stop, i per tant previsiblement altera de manera important la funció de la proteïna. Aquesta mutació no havia estat reportada anteriorment. Es seqüencia aquesta posició en els dos progenitors i tres germans sans de la pacient trobant-se en heterozigosi en tots els familiars.

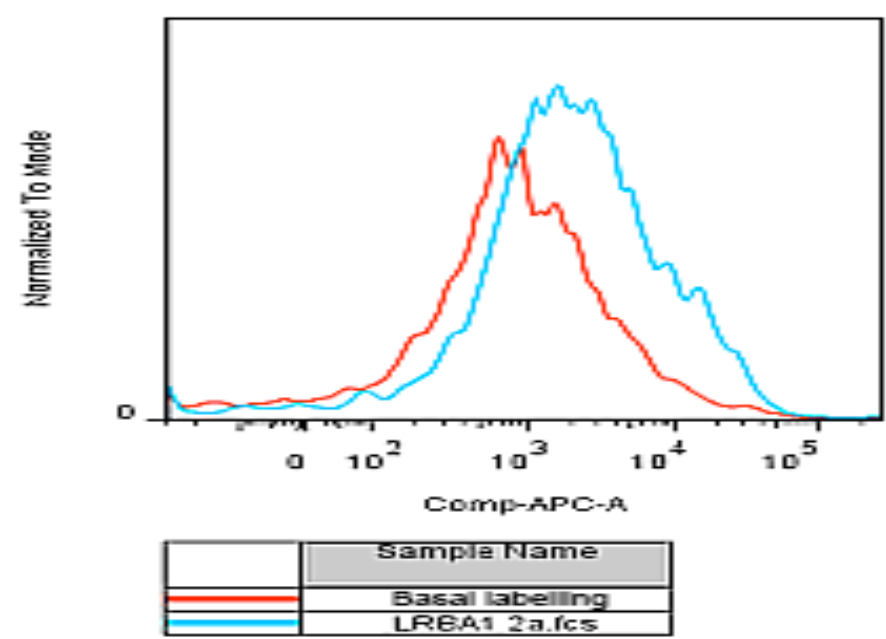


**Figura 4.26:** Cromatogrames corresponent a la validació de la mutació al gen *LRBA* a la pacient i familiars.

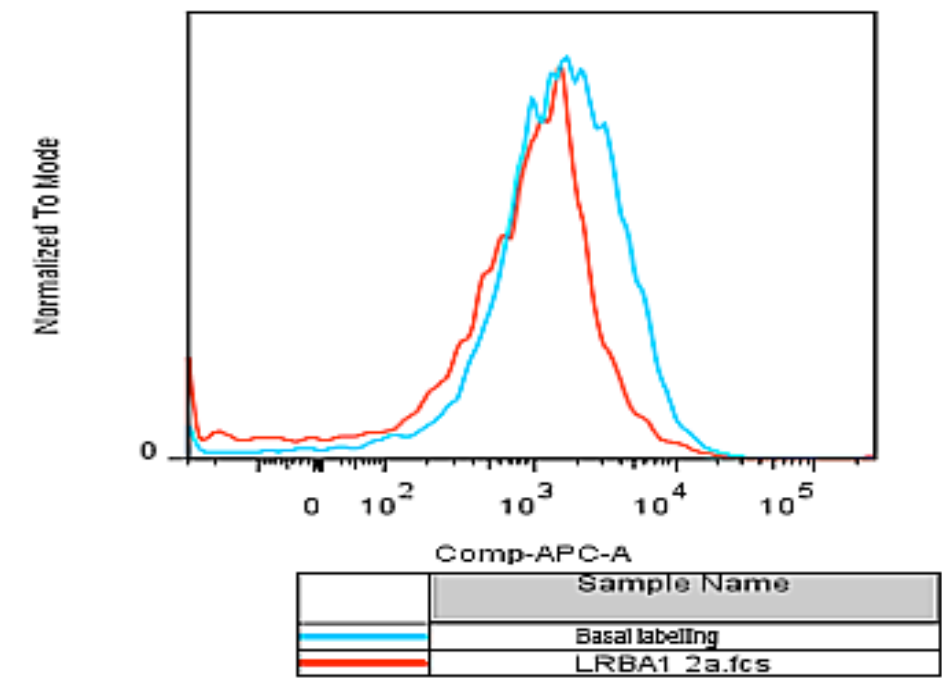


Es realitza estudi d'expressió de la proteïna LRBA en línia de cèl·lules B VEB-transformades de la pacient. Es realitza tinció intracel·lular per immunofluorescència i citometria de flux. El canvi de marcatge LRBA en la pacient és significativament menor que en el control.

**Figura 4.27:** Línia VEB del control



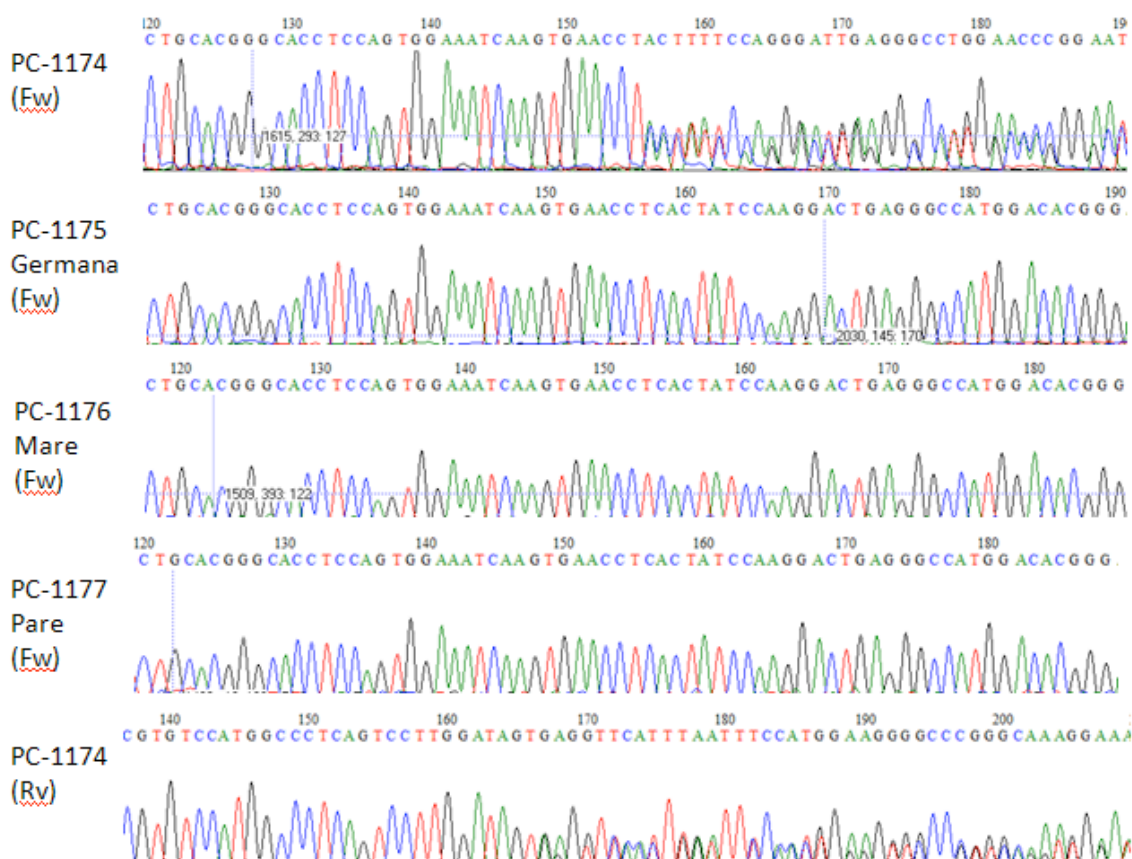
**Figura 4.28:** Línia VEB de la pacient



**P15:** Detectada variant del gen *PIK3R1* (Chr5:6789663G>C (hg19)) en heterozigosi que afecta un lloc de processament del RNA, i per tant pot tenir efecte important sobre la proteïna. Aquesta variant ha estat prèviament reportada com a causant de la malaltia.

**P22:** Entre les variants genètiques descrites a gens candidats es valida la mutació del gen *CTLA4* que consisteix en una deleció d'un nucleòtid en heterozigosi (Chr2:204.735.541 (hg19) de l'exó 2). S'analitzen els dos progenitors i la germana, tots sans. És una mutació *de novo*, no present a cap dels progenitors ni en la germana. Aquesta variant afecta al mar de lectura proteic, i prediu per tant que pot tenir un efecte funcional sobre la proteïna, variant no reportada prèviament.

**Figura 4.29** Cromatogrames corresponents a la validació de la mutació al gen *CTLA4*



## **2) Avaluar les repercussions/implicacions en el tractament i pronòstic dels pacients on s'identifiquen mutacions**

Repercussions/implicacions en el tractament i pronòstic dels pacients on s'han identificat mutacions.

### **P13: Deficiència de LRBA**

Pacient amb deteriorament clínic important que als pocs mesos de la confirmació diagnòstica presenta infecció urinària que requereix ingrés, múltiples complicacions sent èxits per xoc sèptic. Tot i que en aquest cas no ha estat possible una intervenció terapèutica, si permet el consell genètic a la família.

### **P15: APDS-like**

Aquest pacient en el moment del diagnòstic estava diagnosticat de recurrència de limfoma marginal de baix grau. S'havia decidit conducta expectant però per l'augment de nombre i localització d'adenopaties es valorà com indicatiu d'iniciar tractament del limfoma. El fet d'arribar al diagnòstic genètic en aquell moment va canviar l'actitud terapèutica i es decidí instaurar tractament amb rapamicina/sirolimús amb franca milloria clínica. Així, el diagnòstic ha representat un canvi de tractament, i per tant de pronòstic i ha permès el consell genètic.

### **P22: Deficiència de CTLA.4**

Pacient amb malaltia limfoproliferativa amb afectació adenopàtica generalitzada, afectació pulmonar i hepatoesplenomegàlia, el diagnòstic va permetre plantejar tractament amb rapamicina/sirolimús amb milloria clínica. En aquest cas també ha permès millorar el seguiment, el pronòstic (al poder oferir tractaments més específics a la seva patologia) i realitzar consell genètic.



## **Discussió**



## 5. Discussió

---

### 5.1 Preàmbul a la discussió

La present discussió s'intenta desenvolupar de manera ordenada seguint l'ordre dels objectius i dels resultats. Sembla que val la pena començar per puntualitzar que la discussió del present treball d'investigació ofereix algunes dificultats derivades principalment dels diferents mètodes aplicats en els treballs publicats, les diferents definicions per un mateix terme, l'absència en general d'estudis genètics en els pacients diagnosticats d'IDCV, la inclusió de nens i adults en els mateixos treballs, l'anàlisi de dades sense tenir en compte els rangs de normalitat segons edat d'algunes variables i la manca d'algunes dades que considerem d'interès tant relatives a simptomatologia clínica com a proves complementàries.

Al llarg de la discussió compararem la nostra sèrie de 25 pacients amb les sèries de pacients publicades amb diagnòstic d'IDCV. Els criteris d'inclusió i de diagnòstic inicials dels pacients en els diferents estudis publicats i en el nostre han estat els mateixos, així, tot i coneixedors que 4 dels nostres pacients ja no poden ser considerats com IDC, hem de tenir en compte que aquest tipus de pacients formen part dels estudis publicats. Per aquest motiu, algunes vegades compararem el grup global i en alguns apartats només els pacients que continuen estant diagnosticats com IDC (**Grup 3**). A més a més, la majoria d'aquestes sèries estan publicades prèviament a que les tècniques de seqüenciació hagin permès el diagnòstic de part d'aquest pacients com a portadors de mutacions que reclassifiquen els pacients en a una categoria diferent a la IDC; això fa pensar que els resultats publicats s'haurien de sotmetre a revisió una vegada exclosos aquests pacients, però els autors no tornen a revisar les dades publicades i no existeix una manera robusta de "destriar" pacients dins de les publicacions.

Per a la discussió referent als pacients amb neoplàsies es remet a l'article publicat: *Non-Hodgkin lymphoma in pediatric patients with common variable immunodeficiency*, *Eur J Pediatr* (2015) 174:1069–1076, del que es transcriu la discussió del propi article i les conclusions.



## 5.2 Discussió

### **Filiació: sexe, raça, consanguinitat, antecedents familiars**

La sèrie més gran de pacients reportada és la de la publicació de Gathmann el 2014 amb 2.212 pacients amb IDCV estudiats a partir del registre de l'ESID (11), en la distribució per sexes mostra una ràtio dona/home de 1,1, però en el grup de pacients menors de 18 anys és de 0,6. En la nostra població és de 0,3 tant si analitzem els 25 (6/19) pacients inclosos en l'estudi com els 21 (5/16) amb diagnòstic final d'IDCV. Si comparem amb les cohorts pediàtriques publicades trobem ràtios de 0,5 (4/8) a la de West Virginia el 2006 (Ogershok) (23), 1,1 (17/15) a la d'Alemanya el 2009 (Urschel) (22), 0,5 (7/15) a la de l'Hospital Vall d'Hebron de Barcelona (Llobet) també el 2009 (49), 0,5 (15/30) a la de Filadèlfia el 2010 (Yong) (32) i 0,97 (34/35) a la de Teheran del 2012 (Mohammadinejad) (13). Així en població pediàtrica hi ha un clar predomini de pacients de sexe masculí, més enllà d'altres factors (data de recull de les dades i situació del diagnòstic), les discrepàncies en la sèrie iraniana es podria explicar per l'alt grau de consanguinitat (72%) i en la sèrie alemanya no s'explicaria per aquest motiu ja que al ser tots els pacients caucàsics d'origen europeu és esperable una baixa consanguinitat (tot i que no consta la dada), però si sembla hi ha un biaix en el tipus de pacients que es veuen en el centre presentant clínica més greu o evolucionada.

En quan a raça i consanguinitat la informació publicada és escassa, la sèrie pediàtrica alemanya informa que els seus pacients són tots caucàsics d'origen europeu sense aportar dades de consanguinitat (22); la sèrie de Teheran sí informa del 72 % (50/69) de consanguinitat i que 10 dels 69 pacients són germans (14 %) (13); i la de Filadèlfia 97,7 % raça blanca, sense dades de consanguinitat (32). Les sèries d'IDCV amb població adulta ± pediàtrica com la europea de Gathmann (n = 2.212) (11), l'americana Resnick (n = 473) (18), la francesa de Mouillot (n = 313) (72), l'europea de Chapel (n = 334) (7), la italiana de Quinti (n = 224) (12) no aporten dades sobre raça ni consanguinitat. Només en l'estudi DEFI (estudi francès en pacients adults amb immunodeficiència amb hipogammaglobulinèmia) amb 252 pacients adults amb IDCV refereixen que la majoria són de raça blanca (90,1%), poques famílies eren de nord-Àfrica o Orient Mitjà, 2 pacients mescla de races i només un pacient d'origen negre (Carib francès), referent a

consanguinitat segura en el 5,4% i possible en un 6,2% (73). Probablement la nostra sèrie amb un 92 % de pacients caucàsics d'origen europeu i un 8 % d'origen Nord-africà que endemés són els pacients consanguinis sigui comparable a les sèries europees i americanes, tot i que es fa evident la falta d'aquestes dades en algunes de les publicacions.

En la sèrie pediàtrica d'Urschel (22) tots els pacients són el cas índex d'immunodeficiència a la família, però posteriorment es diagnostiquen un germà d'IDCV i una germana de deficiència d'IgA, en quan a altres antecedents familiars refereixen un 28 % de malaltia autoimmunitària i un 59% d'al·lèrgies. La sèrie pediàtrica de Llobet (49) dels 22 pacients: 3 són germans, una parella de germanes, un pacient amb el pare afecte d'IDCV i un altre amb la tieta afectada i en un 8è pacient un familiar amb deficiència d'IgA. En la publicació pediàtrica de Mohammadinejad (13) presenten consanguinitat el 72,4% dels pacients i un 14 % tenen germans afectes d'IDCV avaluats com casos múltiples en l'estudi, no hi ha referència a altres tipus d'immunodeficiències ni a afectació dels pares ni altres antecedents familiars. En el 1r DEFI dels 252 pacients 52 casos (20,6%) són familiars (73). En l'estudi de Yong, refereixen que tres dels pacients tenen germans afectes, no hi ha referència a altres antecedents familiars (32). En la sèrie de 248 pacients de Cunningham-Rundles un 9,6 % de les 104 dones amb fills (148 dones en el grup), aquests tenien deficiència d'IgA, 2 parells de germans afectes i un altre pacient amb un germà afecte que no està inclòs al grup d'estudi, representa un 6 % de pacients amb familiars afectes d'immunodeficiència humoral i un 2% d'IDCV, valors inferiors als reals al no fer-se estudi dels familiars (10). En la nostra sèrie, dels 24 pacients avaluable per antecedents familiars un 33,3 % presenten malalties autoimmunitàries, tots organoespecífiques (un associa també citopènia) d'acord amb la sèrie alemanya. Un 25% presenten antecedents familiars d'immunodeficiències primàries, són 6 pacients amb 8 familiars afectes i com està descrit a la literatura (17)(11) són immunodeficiències humorals i bàsicament associen IDCV i deficiència d'IgA. De tota manera, a diferència de la sèrie francesa tenim mares i fills afectes d'IDCV i no tenim parelles de germans afectes d'IDCV, que es podria atribuir a que la nostra sèrie és pediàtrica i alguns germans encara poden evolucionar de deficiència d'IgA a IDCV o debutar com a IDCV; en aquest sentit, el 14% (3/21) pacients del **Grup 3** presentaven inicialment una deficiència d'IgA evolucionant a IDCV. Respecte

els altres antecedents familiars registrats a la nostra sèrie com són malignitat i al·lèrgia només podem comparar aquesta darrera amb la sèrie d'Urschel amb un 59 % d'antecedents familiars d'al·lèrgia i per tant una gran diferència amb els nostres pacients del **Grup 3** amb un 30 % d'antecedents d'al·lèrgia confirmats per diagnòstic mèdic. Una probable causa d'aquesta diferència és que en els familiars, com en els pacients, també consideressin símptomes d'al·lèrgia-like (clínica suggestiva sense confirmació per proves) com a al·lèrgia o com hem comentat prèviament pel fet de tenir una població seleccionada de major complexitat.

**Edat del primer símptoma, edat al diagnòstic, retard en el diagnòstic, valors d'immunoglobulines, resposta vacunal, isoaglutinines i tractament substitutiu amb gammaglobulines**

Es fa difícil poder comparar l'edat d'inici dels nostres pacients amb les sèries publicades donat que en algunes no existeix una descripció del que es consideren símptomes de la malaltia per establir l'edat d'inici (23)(49)(12) o hi ha definicions vagues ("*major infections or other characteristic conditions*" (18)) o variades segons la publicació, com per exemple: primera infecció greu (11), infeccions recurrents o cròniques i símptomes d'al·lèrgia-like (clínica suggestiva d'al·lèrgia sense confirmació per proves) (22), bronquitis, sinusitis, pneumònia, bronquièctasi, sèpsia i/o endocarditis, meningitis, diarrea crònica, esplenomegàlia, citopènia autoimmunitària, malaltia hepàtica i un grup del 4 % de pacients asimptomàtics al diagnòstic (73), primera pneumònia, augment significatiu de la gravetat o freqüència d'altres infeccions que comporti l'avaluació en un centre d'immunodeficiències (39). En aquesta darrera publicació només indiquen l'edat d'inici en el 51% dels pacients, probablement seria més adequat dir que l'edat d'inici que reporten és la dels pacients que han presentat símptomes infecciosos, no sent l'edat d'inici real per als pacients amb IDCV ja que poden presentar altra clínica que no s'ha avaluat i fins i tot prèvia a la infecciosa. En el nostre estudi hem considerat per definir la data d'inici dels símptomes totes aquelles patologies associades que presenten els pacient amb IDCV, endemés de tenir en compte que és una població pediàtrica i per aquest motiu hem inclòs el retard del creixement com a símptoma. Els nostres pacients presenten una mediana d'edat al primer símptoma de 4,14 anys, sent inferior en el **Grup 2** respecte el

**Grup 3** sense diferències estadísticament significatives. Aquesta edat és inferior a la que presenta la sèrie pediàtrica de West Virginia amb mitjana de 8 anys, i superior a la de Teheran amb mitjana de 2,29 anys  $\pm$  2,86 atribuïble a l'elevada consanguinitat i a l'agrupació familiar de casos. En les sèries d'adults les mitjanes d'edat a l'inici són en l'edat adulta excepte en la sèrie italiana que és de 16,9 anys (rang 2 – 66) (12) i en la francesa que diferencia les medianes entre els homes als 12,6 anys i les dones als 22,4 anys ( $p$  0,01) (73).

Referent al diagnòstic la majoria de sèries de pacients publicades tant pediàtriques com d'adults utilitzen els criteris diagnòstics establerts per l'European Society for Immunodeficiencies (ESID) i el Pan American Group for Immunodeficiency (PAGID) al 1999 (1), amb alguna petita variació com no ser necessari l'inici dels símptomes després dels 2 anys, podent ser a qualsevol edat sempre i quan hi hagi validació del diagnòstic als 4 anys. En les sèries pediàtriques les medianes d'edat referides al diagnòstic són de 10,4 anys (1,1 – 17,4) (22), 7,8 anys (2,5 – 16) (49) i 9,63 anys (2,6 – 15,90) en la nostra cohort, i una mitjana de  $6,76 \pm 4,2$  anys en la sèrie de Teheran (13), observant-se medianes i rangs similars en les sèries europees. En les sèries d'adults les medianes d'edat al diagnòstic són 33,9 anys (12 % diagnosticats abans dels 15 anys d'edat) (73), 30 anys en home i 33,5 anys en dones (28% menors de 21 anys al diagnòstic) (18), 33 anys (39)(7), i mitjana al diagnòstic de 26,6 anys (2-73)(16,6% són menors de 18 anys) (12).

En la valoració del retard en el diagnòstic hem de tenir en compte que la dada inicial, és a dir, l'edat d'inici dels símptomes s'ha establert de manera diferent en els estudis, tot i això, trobem en la nostra sèrie una mediana de 5,20 anys (0,27 – 9,92) similar a la mediana del retard diagnòstic descrita en l'estudi alemany d'Urschel de 5,8 anys (0,2 – 14,3) (22), i la mitjana de  $4,4 \pm 3,59$  anys de l'estudi de Teheran amb un valor baix atribuïble con l'edat del diagnòstic a la consanguinitat i l'agrupació de casos familiars (13). En les sèries d'adults, recordem que inclouen pacients pediàtrics (excepte la francesa, DEFI), descriuen una disminució en els darrers anys del retard en el diagnòstic dels pacients, així els diferents valors que reporten: mitjana 7,46 anys i mediana de 5 anys (7), mediana de 4 anys (0-59) (39), mediana de 6,9 anys (0-55) (73), mitjana de 8,9 anys (12) i mediana de 4,1 anys, però especificant que els pacients amb l'inici dels símptomes abans

dels 10 anys d'edat tenen un major retard diagnòstic (7.2 versus 3,1 anys ( $p < 0,001$ )) (11) aquesta diferenciació per edat d'inici dels símptomes apropa els valors de retard en el diagnòstic als de les sèries pediàtriques.

Es fa evident que existeixen diferències importants entre les sèrie pediàtriques i les d'adults. Referent al sexe, edat d'inici, edat de diagnòstic i retard en el diagnòstic hi ha clares diferències entre els pacients que debuten a l'edat pediàtrica i els que ho fan a l'edat adulta, i el nostre estudi aporta dades de valor en aquest sentit; és a dir, en l'edat pediàtrica junt a que trobem un predomini de pacients de sexe masculí sense diferències per sexe en l'edat d'inici, les medianes d'edat al diagnòstic es troben entre els 7 i els 10 anys d'edat, i el retard diagnòstic és major en població pediàtrica.

Algunes de les sèries d'adults donen valors de mitjanes (IgG 258,12 mg/dL, IgA 27,56 mg/dL, IgM 40,06 mg/dL (12)) o medianes (IgG 246 mg/dL, IgA 8 mg/dL, IgM 21 mg/dL (18), IgG 2,3 g/L, IgA 0,14 g/L, IgM 0,22 g/L (73)) de les immunoglobulines al diagnòstic de la IDCv, en fer-ho no tenen en compte les variacions en els rang de normalitat de les immunoglobulines en els pacients pediàtrics que representen entre el 12 i el 33,5% de pacients amb diagnòstic per sota dels 15 anys d'edat en aquestes sèries. En la sèrie de Wehr, els valors de les immunoglobulines són prèvies a tractament substitutiu referint una mitjana d'IgG de  $2,1 \pm 1,65$  g/L, disposant de la dada en 181 dels 303 (59,7%) pacients de l'estudi; respecte la IgA (valors en 257/303) està disminuïda en el 95,7% dels pacients i la IgM (valors en 268/303) disminuïda en el 79% (39). En les sèries pediàtriques també hi ha resultats expressats en mitjanes (IgG 286,86 mg/dL, IgA 18,39 mg/dL, IgM 39,92 mg/dL (13)) o medianes (IgG 332 mg/dL (80-552) i IgA disminuïda en el 40,9% (49)) i en la sèrie d'Urschel valoren quants pacients presenten disminució de les 3 immunoglobulines (90,6%), disminució d'IgG i IgA (6,25%) o disminució d'IgG i IgM (3,1%) (22). En el nostre estudi per poder avaluar correctament una variable que presenta diferents rangs de normalitat per als pacients en funció de l'edat, tal i com s'explica a la metodologia, s'ha realitzat l'estandardització o normalització dels valors de les immunoglobulines i de les subclasses d'IgG. No podent-se comparar amb les sèries publicades, no hem trobat diferències en cap d'aquests valors entre els nostres pacients del **Grup 2** i del **Grup 3**. Al comparar amb les dues darreres sèries comentades en quant al

percentatge de pacients amb disminució de les immunoglobulines, tant la sèrie de Wehr (aproximadament el 75%) com la d'Urschel (90,6%) presenten un percentatge molt elevat de pacients amb disminució de les 3 immunoglobulines i una disminució d'IgA en el 95,7 i 96,85 % (respectivament) dels pacients; en la nostra sèrie el nombre de pacients amb disminució d'IgA és proper, del 84%, a molta distància del de la sèrie de la Vall d'Hebron del 40,9%. En canvi, només trobem un descens de les 3 immunoglobulines en el 44% dels pacients. Tot i que les medianes de les immunoglobulines al diagnòstic presentades en les diferents sèries siguin similars, el fet que no existeixin diferències entre els pacients amb IDCV i els que presenten altres immunodeficiències ens fa pensar que encara que la seva disminució sigui una característica de la IDCV també ho és d'altres entitats i no en ajuda ni a establir el diagnòstic ni a diferenciar-la d'aquestes altres.

En la sèrie de Gathmann troben una associació negativa entre l'edat d'inici dels símptomes i els nivells d'immunoglobulines al diagnòstic i el retard diagnòstic (11). També en la sèrie de Chapel troben una correlació inversa entre el retard diagnòstic i l'edat d'inici dels símptomes, però no del primer amb els nivells d'IgG al diagnòstic, també descriuen una correlació significativa entre els nivells d'IgM i el desenvolupament de limfoprolifерació policlonal o de malignitat limfoide (7). La nostra sèrie no mostra cap d'aquestes correlacions, les diferències en el retard diagnòstic i l'edat d'inici dels símptomes es podria explicar perquè la nostra sèrie al ser pediàtrica el retard diagnòstic és major i en les altres sèries hi ha predomini de pacients adults. Les diferències de resultats amb la resta de variables es poden atribuir a les diferències de metodologia i de característiques dels pacients en les diferents sèries donat que ni entre dues sèries com aquestes amb pacients europeus adults arriben als mateixos resultats.

La valoració de la resposta vacunal dels pacients ha estat motiu de debat, els avenços en la possibilitat de determinar la resposta a diferents tipus d'antígens com la resposta per serotips a la vacuna antipneumocòccica ha fet canviar les rutines per avaluar als pacients. Actualment, s'aconsella la determinació de la resposta T-dependent i de la T-independent i que almenys una d'elles estigui alterada (17). En els diferents estudis publicats a la metodologia exposen entre els criteris d'inclusió l'alteració en la resposta vacunal o d'isoaglutinines, en alguns també es fa referència als nivells de tall considerats

protectors per a les diferents vacunes, i alguns estudis refereixen que no en tots els pacients s'han pogut realitzar totes les determinacions, però que compleixen criteris d'IDCV. Els nostres pacients es van diagnosticar en els primers anys amb les determinacions de resposta vacunal a tètanus, rubèola i/o xarampió, en els darrers anys es realitza la determinació de resposta a les vacunes del tètanus, diftèria i pneumococ. En la rutina del nostre laboratori no és possible la realització de serotips del pneumococ i es realitza per la determinació global. Es va realitzar la determinació en 22 dels 25 pacients, sent protectora en un pacient del **Grup 2** i un del **Grup 3**, tots dos amb isoaglutinines negatives. Els 3 pacients on no es va realitzar també tenien isoaglutinines negatives: en la pacient del **Grup 2** els seus nivells d'immunoglobulines i els seu estat general no ho aconsellaven, un dels pacients del **Grup 3** estava en tractament amb immunosupressors per l'artritis idiopàtica juvenil i en l'altre el seu metge va considerar prioritari el tractament substitutiu. En un estudi australià amb 16 pacients pediàtrics mantenien la resposta a vacunes proteiques al diagnòstic entre el 44 i el 62 %, però no així amb la vacuna antipneumocòccica amb resposta absent en el 71 % dels pacients mentre estava alterada en el 21 % dels nens (74). En la nostra sèrie dels 12 pacients que es realitzà resposta a vacuna antipneumocòccica 23-valent al diagnòstic en el 100 % estava alterada (absent o la perden), concordant amb l'estudi citat, no així amb les vacunes proteiques on només 3/17 (17.6 %) dels pacients avaluats per vacunes proteiques mantenien resposta normal. En el mateix estudi troben que el 73 % mantenen títols normals d'isoaglutinines al diagnòstic en canvi en els nostres pacients amb IDC (V) (**Grup 3**) només el 29,4 % (5/17) tenien títols normals.

Realitzen tractament substitutiu amb gammaglobulina la majoria dels pacients, en la sèrie d'Urschel especifica en el 94 % en el moment de realitzar l'estudi, sent el 85 % tractament via intravenosa i el 9 % via subcutània (22); en la sèrie de Gathmann rep tractament el 80,3 % dels pacients (11), en la sèrie de Quinti el 79 % dels pacients al diagnòstic i la resta en els següents 10 anys (13 % en el primer any des del diagnòstic, 4 % entre 2 i 5 anys i 4 % entre 5 i 10 anys) (12) i en la nostra sèrie el 79,2 % (19/24) representant tots els del **Grup 2** i el 76 % del **Grup 3**. Tres dels pacients (15,8 %, 3/19) reben tractament amb gammaglobulines subcutànies i la resta per via endovenosa, proporcions similars a les descrites. En 15 dels 19 (15/24 62,5 %) pacients el tractament s'inicia al diagnòstic, en un

altre (1/24 4,2%) durant el primer any i en els altres tres (3/24 12,5%) en el segon any des del diagnòstic. Els 5 pacients que no reben tractament substitutiu és perquè el motiu de l'estudi que ha conduït al seu diagnòstic no han estat les infeccions (retard de creixement, malaltia autoimmunitària) o ja no en presenten en el moment del diagnòstic: en 4 fa entre 2 i 8 anys del diagnòstic i en un 14 anys, més del temps descrit per Quinti perquè els pacients del seu grup necessitin tractament substitutiu.

### **Manifestacions clíniques associades a IDCV dels pacients i fenotips clínics**

La primera classificació per fenotips clínics va ser proposada al 2008 per Chapel (7) dividint els pacients en 5 fenotips, tot i que el 83% pertanyien a un únic fenotip un 12,6% presentaven 2 fenotips, un 4% 3 fenotips i un 0,3% presentaven 4 fenotips. Pràcticament la meitat (47,6%) dels pacients eren del grup només infeccions, un 35,6% autoimmunitat, un 26,3% limfoproliferació policlonal, un 8,6% enteropatia i un 3% malignitat limfoide. En la sèrie pediàtrica de Teheran el 56,5% eren del fenotip només infeccions, el 24,6% de limfoproliferació policlonal, el 17,4% autoimmunitat, el 10% malignitat i el 4,3% d'enteropatia (13). Posteriorment es realitzà una revisió dels fenotips basant-se en les dades de 3 sèries de pacients (la inicial de Chapel, la DEFI i la de Mount Sinai, amb una cohort total de 848 pacients) on es definiren 4 fenotips: sense complicacions, citopènia autoimmunitària, limfoproliferació policlonal i enteropatia inexplicable. En altres publicacions el fenotip sense complicacions representa un menor percentatge dels pacients com el 32% en la sèrie de Resnick (18). En el 2n DEFI van agrupar el 313 pacients en els 4 fenotips mostrant un 23,3% de pacients amb 2 fenotips i un 2,5% amb 3 fenotips, el fenotip sense complicacions representava el 31,3% dels pacients, presentant un 47% limfoproliferació policlonal, un 17,5% citopènia autoimmunitària i un 24,2% enteropatia crònica. En el primer DEFI amb 252 pacients presentaven malaltia autoimmunitària organoespecífica el 16% dels pacients (73). En la nostra sèrie quan analitzem en funció dels 4 fenotips veiem un predomini de pacients del fenotip no complicacions (68%) i de pertànyer a un únic fenotip (84%) que augmenta quan s'analitzen els pacients del **Grup 3** (71,4 i 85,7%, respectivament). El fenotip de malignitat limfoide que s'ha suprimit de la classificació ens és d'ajuda per diferenciar els pacients que tenen més probabilitats de pertànyer al **Grup 2**, així com també ho és el fenotip de limfoproliferació policlonal. Amb



aquesta nova classificació no obtenim una clara classificació en complexitat o gravetat dels nostres pacients pediàtrics ja que en el grup de no complicacions ens queden englobats pacients amb limfoma o que associen varies malalties autoimmunitàries organoespecífiques. Com ha estat descrit en altres sèries els pacients pediàtrics presenten una malaltia més complicada i els pacients sense complicacions es diagnostiquen més tard en la vida (7).

Referent a les diferents manifestacions clíniques de la IDCV trobem que respecte les infeccions significatives les presenten  $\frac{3}{4}$  parts dels nostres pacients, tot i tenir en compte que cada publicació ha seguit uns criteris diferents trobem que estan presents entre el 84 i el 94 % dels pacients en les sèries d'adults (18)(12)(73) i entre el 88 i el 100 % en les sèries pediàtriques (23)(22)(49)(13). La nostra menor proporció de pacients no és atribuïble a que els nostre pacients tinguin menys infeccions, sinó que per considerar que tinguin infeccions significatives (no pròpies de l'edat) hem avaluat el tipus, nombre i gravetat de les infeccions en funció de l'edat del pacient, en canvi, algunes publicacions consideren suficient el fet de tenir una pneumònia.

Respecte les malalties autoimmunitàries tenim un elevat percentatge de pacients (52 %) afectes (24 % citopènies i 36 % malaltia organoespecífica). Una tercera part dels nostres pacients presenten 2 o més malalties autoimmunitàries, dades similars a les de la sèrie pediàtrica d'Ogershok amb 41,6 % dels pacients afectes i fins al 40 % amb 2 malalties autoimmunitàries, però superiors a la resta de sèries pediàtriques: 31 % Urschel (22), 17,3% Mohammadinejad (13) i 13,6% Llobet (49) i d'adults que presenten un 25-30% de pacients afectes (17). Aquesta major representació de les malalties autoimmunitàries en algunes sèries pediàtriques es pot atribuir, almenys en part, a un estudi o recollida de dades menys detallat en població adulta, sobretot en respecte a malalties autoimmunitàries organoespecífiques, i a una major complexitat dels pacients pediàtrics.

En les sèries d'adults, els percentatges d'afectació de malaltia pulmonar crònica són elevats (30-45%) i es veu un augment dels pacients afectes des del diagnòstic i al llarg del seguiment (12)(18), així és esperable un menor nombre de pacients afectes en les sèries pediàtriques. Trobem una variable proporció de pacients amb bronquièctasis en les sèries d'adults entre el 11,2 % (18) i el 37 % (73), amb una major uniformitat en les 4 sèries

pediàtriques amb un 25-34 %, i només en un 8 % en la nostra sèrie on tenim una baixa freqüència de malaltia pulmonar crònica representada principalment per la pneumònia intersticial limfocítica. També es descriuen uns menors nivells d'IgM en pacients amb bronquièctasis (11), que no es corrobora en els nostre estudi potser pel baix nombre de pacients afectes. Com s'expressa en algunes sèries l'elevat nombre de pacients amb bronquièctasis es pot atribuir al retard en el diagnòstic i la instauració de tractament substitutiu. En el cas d'un dels nostres pacients amb bronquièctasis d'aparició molt precoç creiem són degudes, no al retard diagnòstic ni d'instauració de tractament, sinó a la manca d'adherència al tractament substitutiu per part de la família els primers dos anys de seguiment. És important fer un seguiment acurat dels pacients per evitar les complicacions pulmonars a l'edat adulta, ja que representen una de les principals causes de mortalitat.

La hiperplàsia limfoide està present en tots els pacients del **Grup 2** de forma significativa respecte el **Grup 3**, i també per separat tant l'esplenomegàlia com les adenopaties persistents ens haurien d'alertar cap a la recerca d'un diagnòstic alternatiu a la IDCV. El 32 % dels nostres pacients presenten esplenomegàlia, el mateix que està descrit a la literatura (17).

L'enteropatia està descrita en el 4-9% dels pacients (13)(11) segons les sèries, en la nostra representa el 8% dels pacients. L'enteropatia s'ha intentat associar tant a l'autoimmunitat com a les infeccions, en aquest darrer cas podria ser per una ineficaç resposta a la infecció subclínica (11). En tot cas, el seu correcte diagnòstic requereix descartar la causa infecciosa: en alguns casos hi ha gèrmens poc freqüents que no són buscats de rutina en els laboratoris, i la realització d'endoscòpia amb biòpsia, sent possiblement una entitat infradiagnosticada per la necessitat de tècniques invasives i perquè en alguns casos pot presentar-se amb pocs símptomes o fins i tot ser asintomàtica.

La malignitat en la nostra sèrie ve representada per 4 pacients amb limfomes i un d'ells amb una segona neoplàsia (xantoastrocitoma pleomòrfic), sent un 16 % de la sèrie però un 9,5 % dels pacients del **Grup 3**. Aquesta dada estaria d'acord amb la literatura on s'estableix un 6-9% de neoplàsies amb un predomini de limfomes (17) si pensem que les sèries publicades no inclouen pacients com els del nostre **Grup 2**. De tota manera les

sèries pediàtriques d'Urschel (22) i Mohammadinejad (13) presenten 10 i 13% de pacients amb neoplàsies, superiors a les sèries d'adults, confirmant de nou la major complexitat dels pacients pediàtrics.

La malaltia granulomatosa no està present en els pacients de la nostra sèrie però tampoc en cap de les sèries pediàtriques citades en aquest apartat, podent representar una complicació pròpia de l'edat adulta o dels anys d'evolució de la malaltia.

En la sèrie pediàtrica de van de Ven (75) trobem una major tendència a nivells més baixos al diagnòstic d'IgG i IgA en els pacients amb complicacions respecte els que no en presenten ( $p$  0,06), sense diferències en sexe ni edat al diagnòstic. En la nostra sèrie tampoc trobem diferències per sexe ni edat al diagnòstic en els pacients amb complicacions, com tampoc en els valors d'immunoglobulines; probablement la diferència es deu a que en l'estudi previ no tenen en compte els diferents rangs de normalitat de les immunoglobulines en els seus pacients de 3 a 18 anys. En els nostres pacients hem trobat un menor retard diagnòstic en els pacients amb només infeccions (fenotips 2008) respecte la resta, dada no avaluada en l'estudi citat, però que es correspondria amb el fet que els pacients de sexe masculí d'inici abans dels 10 anys tenen major tendència a presentar clínica infecciosa que complicacions no-infeccioses endemés que els pacients de sexe masculí presenten menor retard diagnòstic (11).

La clínica d'al·lèrgia està més referida en les sèries pediàtriques assolint afectació fins al 38% o 50% dels pacients (22)(49), tot i que una baixa proporció tenen confirmació amb IgE específica (per prova cutània i/o en sèrum) o proves d'hiperreactivitat bronquial. En la nostra sèrie hem estat estrictes en els criteris diagnòstics d'al·lèrgia trobant un 20% de pacients afectes. En l'apartat de malalties al·lèrgiques s'exposa amb més detall la comparativa amb altres estudis.

Una dada només referida a les sèries pediàtriques, però de valor en aquestes, és el retard del creixement. En la nostra sèrie representa el 40% (10/25, tots alteració de talla i alguns també de pes) dels pacients, tots els del **Grup 2** i una tercera part dels del **Grup 3**. En la sèrie d'Urschel el 28% presenten retard del creixement, associat a atòpia, sobretot intoleràncies alimentàries, i a diarrea crònica (22). En la sèrie d'Ogershok tres pacients

(25 %) presenten deficiència d'hormona del creixement, dos (2/12 16,6 %) en el context d'autoimmunitat de la IDCV i el tercer probablement secundari a la radiació d'un sarcoma de nasofaringe (23). En la sèrie de Llobet també es descriu un pacient amb deficiència d'hormona del creixement (4,5 %) (49). És d'interès que una part dels pacients es recuperen i normalitzen creixement, observant-se aquesta millora tant en els pacients amb deficiència d'hormona del creixement que tenen una correcta resposta al tractament hormonal com en els pacients amb infeccions de repetició quan es controlen aquestes i s'instaura tractament substitutiu. En la nostra sèrie és destacable que dels 7 pacients del **Grup 3**, els 2 que recuperen creixement no associen malaltia autoimmunitària, i dels 5 que no recuperen 4 presenten malalties autoimmunitàries i 3 no han presentat infeccions significatives, no podent atribuir a aquest darrer fet el problema de creixement. El pacient del **Grup 2** que ha recuperat la talla presenta citopènia autoimmunitària: aquest i uns dels altres pacients encara no tenen els 18 anys i les seves talles es troben per sota de la mitjana. En els pacients pediàtrics amb retard del creixement es fa necessari descartar el deficiència d'hormona del creixement, ja que presenten una bona evolució amb tractament, i valorar la possibilitat d'un diagnòstic alternatiu a la IDCV, sobretot en els pacients amb fenotip complicat.

### **Malalties infeccioses**

En la nostra cohort com en el resta de publicacions la majoria de pacients presenten infeccions de repetició, tot i que quasi una tercera part dels pacients del **Grup 3** no han presentat infeccions significatives, però si pneumònia un terç d'aquests. Així han presentat pneumònia el 57 % dels pacients, valor que es correspon amb les publicacions pediàtriques 46,6-78 % (23)(22)(32)(13) i les d'adults 32-76 % (11)(25). Tots els pacients amb infeccions significatives han presentat infeccions de tracte respiratori superior i/o inferior corresponent amb les sèries publicades, així com el tipus de gèrmens aïllats amb major freqüència. Només un pacient del **Grup 3** ha presentat diarrea crònica sense identificar-se germen, la resta han presentat episodis de diarrea aguda on s'han identificat els gèrmens habituals (*Giardia*, *Salmonella* i *Campylobacter*) referits en altres sèries (23)(25). Com en la sèrie d'Urschel (22), l'adenoidectomia és la cirurgia més freqüent d'aquests pacients. En la nostra sèrie es realitza a cinc pacients del **Grup 3** entre

3 i 8 anys d'edat i en el pacient del **Grup 2** als 2 anys (dada no referida en l'article citat) i afecta una proporció molt inferior de pacients (24% respecte 50%).

A destacar que els 3 pacients del **Grup 2** han presentat infeccions persistents per CMV i/o VEB, a diferència de cap dels del **Grup 1** ni **3**. La majoria de sèries no fan referència a aquest tipus d'infeccions en els pacients amb IDCV o no presenten pacients amb infeccions cròniques o persistents per VEB/CMV (22). Hi ha dues publicacions que avaluen aquests virus en relació a l'alteració en la resposta de cèl·lules T i el CMV com possible causant de l'enteropatia en la IDVC (76) i VEB i CMV en relació a risc de limfoma (27). Tant aquestes publicacions com la nostra sèrie ens condueixen a pensar que aquests tipus de pacients necessiten d'un seguiment més proper pel risc de colitis i limfoma i per buscar altres possibilitats diagnòstiques a la IDCV.

### **Malalties autoimmunitàries**

Malaltia autoimmunitària i immunodeficiència semblarien conceptes oposats dintre de les alteracions immunitàries, però l'elevat nombre de pacients amb ambdues fa pensar que comparteixen mecanismes patogènics. Qualsevol alteració en algun dels punts de control de tolerància central o perifèrica a autoantígens o una resposta inflamatòria crònica exagerada a antígens externs promourien l'autoimmunitat per diferents mecanismes. En la nostra sèrie hi ha un elevat nombre de pacients amb malalties autoimmunitàries, sent la més freqüent la PTI com en la majoria de sèries (17), però seguida de les organoespecífiques que trobem en elevat nombre, més del descrit en altres sèries que refereixen prevalences fins a superiors al 5 % per a tiroïditis, anèmia perniciosa i vitiligen, més elevades que en població general (77). En la nostra sèrie totes les pacients del **Grup 3** presenten malaltia autoimmunitària. La malaltia autoimmunitària, citopènia autoimmunitària, presentar 2 o més malalties autoimmunitàries i associar citopènia i malaltia organoespecífica predomina clarament en el sexe femení respecte el sexe masculí; a diferència de la resta de sèries on és més freqüent en sexe femení, però sense diferències significatives (18)(12)(78). En el 20 % dels pacients la malaltia autoimmunitària va ser la primera manifestació (2a en freqüència després de les infeccions (60 %)) i en el 85 % el diagnòstic (almenys d'una de les malalties autoimmunitàries) va ser previ al d'IDCV. Altres sèries també descriuen la malaltia

autoimmunitària com a primera manifestació en un 14 % dels pacients (78), específicament la citopènia autoimmunitària com a primer símptoma en el 10% (73) i en un 17,4-35% dels pacients el diagnòstic és previ al d'IDCV (12)(79).

En un estudi de pacients pediàtric amb IDCV i autoimmunitat troben diferències significatives presentant major recompte de limfòcits B i valors d'IgM, i menor percentatge de cèl·lules B memòria commutades en aquests pacients respecte els pacients sense autoimmunitat (78). Quan avaluen els pacients amb citopènia respecte la resta de malalties autoimmunitàries troben menor edat d'inici de la malaltia, IgM més elevada i IgA més baixa en els primers de forma significativa. En la nostra sèrie quan avaluem pacients amb malaltia autoimmunitària respecte no presentar-la, de les variables prèviament citades només trobem diferències en els valors d'IgM i en el nombre de limfòcits B, però en aquest cas de forma contrària al descrit, els nostres pacients amb autoimmunitat presenten limfopènia B i no augment del nombre de limfòcits B. No trobem diferències en els valors de les immunoglobulines encara que si una tendència a major l'edat d'inici en els pacients amb citopènia respecte malalties organoespecífiques.

En els pacients tractat amb rituximab es descriu una depleció de les cèl·lules B circulants durant 6-9 mesos i recuperació als 12-24 mesos, en la recuperació es produeix una relativa deficiència de les cèl·lules B de memòria que pot ser la causa de la hipogammaglobulinèmia (80). En pacients amb IDCV i citopènia autoimmunitària es descriu una resposta a rituximab en el 85% dels pacients i infeccions greus en el 24% (la meitat sense tractament substitutiu) (80). En quan als pacients tractats amb rituximab per la seva malaltia autoimmunitària en el nostre estudi van ser tres, i només va respondre al tractament un dels pacients després d'una segona tanda per recaiguda, els altres 2 pacients sense resposta. No van presentar infeccions greus però dos d'ells estaven en tractament amb gammaglobulines intravenoses. En resum, presenten diferents comportaments respecte els limfòcits B: una de les pacients ja tenia els limfòcits baixos previ al tractament i podria ser el motiu de l'escassa resposta, l'altra pacient presenta disminució dels limfòcits T amb recuperació als 2 anys, la IgA ja era baixa i la IgM baixa i es recupera després de la primera tanda, però no torna a pujar després de la segona tanda, i en el darrer pacient els limfòcits B baixen i es recuperen i la IgG i la IgA

baixen sense recuperar-se, estant sense tractament substitutiu. És important tenir en compte les complicacions d'aquest tipus de tractament en pacients amb IDCV, endemés de plantejar-se descartar la IDCV en els pacients amb citopènies abans d'iniciar tractament amb rituximab.

### **Limfoproliferació policlonal**

Presenten limfoproliferació policlonal el 25 % dels pacients en una sèrie pediàtrica, tots corresponents a limfadenopatia persistent ja que no reporten malaltia granulomatosa ni LIP (13). En les sèries d'adults la limfoproliferació policlonal representa des del 47 % (en aquesta sèrie inclouen malignitat limfoide i esplenomegàlia) (72), en una altra representa un 26% (incloent hepatoesplenomegàlia) (7) o fins un 16%, sent el 55 % dels pacients de sexe masculí (81). Aquest darrer percentatge similar al de la nostra sèrie on aquests pacients representen un 20 % (5/25) del global o un 14 % (3/21, tots de sexe femení) del **Grup 3**. A destacar que durant la discussió comprovem que les pacients de sexe femení del **Grup 3**, tot i estar en menor proporció respecte el sexe masculí, cap pertany al grup de no complicacions i la majoria (4/5) presenten dues malalties associades a la IDCV.

### **Malalties al·lèrgiques**

Les malalties al·lèrgiques han estat poc estudiades en les cohorts de pacients amb IDCV. En una sèrie de 62 pacients adults presenten clínica suggestiva de: asma el 46,7%, atòpia (entesa com asma i/o rinitis al·lèrgiques) el 43,5 % i asma al·lèrgica el 29 %. Després de realitzar proves cutànies, determinacions sèriques d'IgE total i específica i espirometria amb prova broncodilatadora en 61/62 pacients i proves de provocació bronquial inespecífiques i específiques en 15/62, poden confirmar asma en el 14,5 %, atòpia en el 9,7 % i asma al·lèrgica en el 6,5 % (que representen el 22% dels que tenien clínica suggestiva i el 80 % dels que amb clínica suggestiva completen l'estudi) (20). El mateix grup publica un segon estudi amb 72 pacients amb IDCV on el 82 % presenten clínica de rinitis crònica o episòdica i un 43% de rinitis al·lèrgica, s'estudien mitjançant IgE específica en proves cutànies i/o sèriques, només són positives en el 5,6% de la cohort i en el 12,9% dels que tenen clínica de rinitis al·lèrgica (21).

Aquest resultat són clarament diferents als observats en la nostra sèrie pediàtrica on tenim percentatges molt menors de pacients amb clínica suggestiva d'asma o rinitis al·lèrgica (9,5%), però en tots es confirma per IgE específica tant en les proves cutànies com en la determinació en sèrum i l'asma en la prova broncodilatadora. Així, els nostres resultats són més concordants amb els d'Ogershok que tot i referir asma en el 83% dels pacients, un 8,3% presenta asma i rinitis al·lèrgica confirmada per prova cutània i un 8,3% asma i dermatitis atòpica, en la resta de pacients l'asma està relacionada amb infeccions víriques i milloria amb l'edat, tot suggestiu d'asma no al·lèrgica (23). En la sèrie d'Urschel refereixen 38% amb símptomes d'al·lèrgia: 18,7% al·lèrgia alimentària, 12,5% dermatitis atòpica, 6,25% urticària, 6,25% rinitis i 3,12% asma, amb positivitats per prova cutània a aliments, fàrmacs i pneumoal·lèrgens variable entre el 10 i el 33% (22). En la sèrie de Mohammadinejad troben referits un 11,6% de dermatitis atòpica i un 4,3% d'asma (13) i en la de Llobet un 50% de malalties al·lèrgiques, presentant un 42,8% les proves cutànies positives (49).

Els pacients de la nostra sèrie mostren prevalences de malaltia al·lèrgica similars a població general i comprovables per les proves rutinàries. Aquests resultats indiquen la importància d'estudiar correctament els nens al·lèrgics des dels punt de vista immunitari i, a l'inrevés, els nens amb immunodeficiència realitzar estudi de malaltia al·lèrgica.

## **Neoplàsies**

Ens remetem a la discussió de l'article que forma part de la tesis: "Non-Hodgkin lymphoma in pediatric patients with common variable immunodeficiency". Traducció de la discussió i les conclusions:

Descrivim tres pacients pediàtrics amb IDCV que desenvolupen NHL, un d'ells associat a infecció per VEB. Endemés, un dels pacients desenvolupa en el curs de la seva malaltia un astrocitoma de baix grau. Les complicacions de la IDCV inclouen un elevat risc de malignitat, especialment limfoma i càncer gàstric [4, 9, 12, 23]. El limfoma es pot considerar una de les complicacions més greus de la IDCV, i tot i que actualment la causa d'aquest major risc no està clara, sembla ser multifactorial: genètica, desregulació immunitària i infeccions cròniques (virus oncogènics com el VEB) que interactuen en el desenvolupament de la neoplàsia [6].



A causa de l'heterogeneïtat de la IDCV s'han proposat diverses classificacions per agrupar els pacients i definir el risc de complicacions. La classificació de l'EUROclass es basa en el fenotip de la cèl·lula B: els pacients que pertanyen al grup smB-Tr<sup>hi</sup> presenten un major risc de limfadenopatia [25]. Els pacients amb infiltració limfocítica policlonal o limfadenopatia persistent tenen un major risc de malignitat limfoide [4]. En la classificació pediàtrica proposada per Yong et al., el grup I (<5 limfòcits B memòria commutats) té una major prevalença de complicacions, incloent limfadenopatia i malignitat; tot i que en el grup I hi ha 3 pacients amb neoplàsies (1 leucèmia, 1 limfoma i 1 melanoma) i cap en el grup II, les diferències en freqüència no eren estadísticament significatives [27]. La sèrie pediàtrica de van-de-Ven confirmà que els pacients pediàtrics amb IDCV amb menys de 5 cèl·lules B de memòria commutades/ $\mu$ L tenen una major prevalença de complicacions clíniques; però un nombre superior de cèl·lules B de memòria commutades no exclouen complicacions greus [24]. En la nostra cohort, només el pacient 2 presentava esplenomegàlia, <5 cèl·lules B memòria commutades i pertanyia al grup SmB- de l'EUROclass. Pel contrari, els altres 2 pacients amb IDCV presenten com a característica comuna: >5 cèl·lules B memòria commutades i pertinença al grup smB+21<sup>lo</sup>. A la classificació de l'EUROclass, el grup smB+21<sup>lo</sup> s'associa a esplenomegàlia mentre que l'expansió de les cèl·lules B transicionals estava significativament unida amb limfadenopatia [25].

La malignitat era un dels 5 fenotips clínics en la classificació d'IDCV proposada per Chapel et al. [4]. En aquesta classificació, els pacients amb limfadenopatia policlonal mostraven un increment de 5 vegades el risc de malignitat limfoide [4]. La malignitat limfoide es presenta tard en el desenvolupament de la malaltia i quasi sempre en pacients amb una infiltració limfocítica policlonal [4]. En una revisió posterior, el "fenotip malignitat" es va eliminar donat que la IDCV podia no ser l'esdeveniment inicial [5]. La nostra sèrie mostra que el limfoma pot definitivament aparèixer en pacients pediàtrics joves amb IDCV, amb una mediana de 8 anys d'edat i sense limfadenopatia policlonal prèvia. El pacient 3 va ser primer diagnosticat de limfoma però les infeccions i el dèficit de creixement podrien ser símptomes d'una IDCV no diagnosticada [2]. A més a més, el pacient 1 va ser diagnosticat inicialment de limfoma i posteriorment va desenvolupar diferents símptomes relacionats amb la IDCV. Tot i que el diagnòstic del limfoma no permetia el diagnòstic definitiu d'IDCV, l'evolució de la pacient fa pensar que hi havia una

IDCV no diagnosticada prèviament a la manifestació del limfoma. La precoç edat a l'inici de la clínica de limfoma i de la immunodeficiència en els nostres pacients ens conduí a la realització d'estudis genètics per descartar una predisposició genètica a la malaltia limfoproliferativa així com altres immunodeficiències primàries. Recentment, s'han descrit noves malalties genètiques en pacients prèviament diagnosticats d>IDCV. Algunes d'aquestes mutacions s'han associat a predisposició a alteracions limfoproliferatives com: PIK3CD, PRKCD, Notch1, SH2D1A o XIAP. En aquest sentit, creiem que l'estudi genètic està indicat en pacients amb IDCV, especialment en els pacients pediàtrics que presenten limfoma, immunodesregulació i/o autoimmunitat. Característicament, els nostres 3 pacients pertanyen a diferents grups de classificació i els seus fenotips clínics no es superposen però tots ells desenvolupen malignitat, sent un limfoma MALT en dos d'ells.

Els limfomes que tenen lloc en pacients amb IDCV són més probablement d'origen en la cèl·lula B. Hi ha un predomini de NHL que es presenten generalment entre la 4a i la 7a dècades de la vida i rarament en nens, freqüentment són extranodals i VEB negatius [6]. Un estudi retrospectiu de biòpsies en nòduls limfàtics de pacients amb immunodeficiències primàries mostra que en 16/19 mostres positives per limfoma eren de pacients amb IDCV, sent la major part NHL i VEB negatius per hibridació in situ [13]. La importància de la infecció en l'etiologia de la limfoproliferació en pacients amb IDCV s'exposa a la publicació de da Silva et al., que descriu un pacient amb lesions cutànies positives per VEB amb diagnòstic de limfoma MZ [10]. En la nostra cohort de pacients pediàtrics amb IDCV el limfoma es desenvolupa a edats molt joves, amb un pacient diagnosticat de limfoma de Burkitt als 4 anys d'edat i dos diagnosticats de limfoma MALT als 8 i 11 anys d'edat. Es disposa de la hibridació in situ de RNA pel VEB en 2 pacients (1 i 2), sent negatiu en els dos. Es detectà el VEB per PCR en la biòpsia del pacient 2, no es detectà en el pacient 1 i desconegut en el pacient 3.

En la cohort de pacients amb IDCV de Cunningham-Rundles et al. el 23 % de les neoplàsies eren de tipus MALT [8]. Prèviament només s'havien descrit set casos de limfoma MALT en pacients amb IDCV. La majoria de casos afecten el pulmó; en la resta es veuen afectats: la paròtide, els sins, les cavitats orbitàries i l'estómac [1, 8]. Aquestes dades contrasten amb les de pacients sense IDCV, on la localització més freqüents del limfoma MALT és l'estómac. És una dada sorprenent, tenint en compte que l'*Helicobacter pylori*, que està implicat en el desenvolupament del limfoma MALT, és freqüent en

pacients amb IDCV. En els nostres pacients pediàtrics amb IDCV, com en les sèries publicades, el limfoma MALT ha afectat el pulmó, adenopaties i les paròtides. Hi ha evidència en la història natural del limfoma MALT de la possibilitat de la seva evolució a un subtipus histològic de major grau [10]. El tractament dels pacients immunocompetents amb limfoma MALT no gàstric acostuma a incloure la depleció de cèl·lules B amb anticossos monoclonals amb o sense associació a quimioteràpia. Els tractaments estàndards amb quimioteràpia no són ben tolerats en els pacients amb immunodeficiències primàries. El rituximab pot aconseguir la remissió complerta del limfoma de cèl·lules B en els pacients amb IDCV. Així, s'ha de considerar el tractament amb rituximab com monoteràpia o associat a quimioteràpia d'intensitat reduïda [10, 21]. Un dels nostres pacients es va tractar amb rituximab com a monoteràpia assolint remissió complerta, sense recidives després de sis anys de seguiment. El limfoma MALT detectat en la pacient 1 va ser inicialment tractat amb quimioteràpia. El limfoma presentà una recidiva i s'aconseguí la remissió completa amb rituximab. Tres anys després de la remissió s'ha detectat una segona recidiva en el centre d'adults on es realitza el seguiment en l'actualitat.

El paper dels agents infecciosos s'ha estudiat en els pacients amb IDCV. Wheat et al. van mostrar la presència de l'herpesvirus humà 8 en 6 dels 9 pacients amb IDCV afectes de malaltia pulmonar intersticial granulomatosa i limfomatosa [26]. Un d'aquest pacients va desenvolupar un NHL (es trobà un elevat nombre de còpies de HHV8 per qRT-PCR en el gangli limfàtic maligne) i un altre pacient va desenvolupar un limfoma MALT. L'estudi de Raeiszadeh descriu un augment de 13 vegades dels pèptids derivats de les cèl·lules T CD8+ específiques per CMV en els pacients amb IDCV comparats amb els controls [19]. L'observació clínica suggereix que la resposta exagerada al CMV pot causar o exacerbar l'enteropatia en els pacients amb IDCV [19]. En la nostra cohort, la pacient 2 mostra positivitat per CMV en les biòpsies colòniques i un brot greu de colitis que requerí de colectomia total anys després del limfoma. Vam realitzar qRT-PCR per HHV6, 7 i 8 en plasma i en cèl·lules mononuclears de sang perifèrica en els pacients 2 i 3 sent negatives, així com també va ser negativa la PCR per HHV8 en la biòpsia pulmonar de la pacient 2. Hem de tenir en compte que els nostres pacients amb IDCV no presenten malaltia pulmonar intersticial granulomatosa ni limfomatosa com en l'estudi de Wheat. La infecció per *Helicobacter pylori* i l'anèmia perniciosa són factors de risc per al càncer gàstric en la població general i també en els pacients amb IDCV [12]. Cap de les sèries publicades

presenta càncer gàstric en els pacients pediàtrics amb IDCV, tampoc entre els nostres pacients.

Referent a altres neoplàsies sòlides, els tumors astrocitaris no s'han descrit en els pacients amb IDCV. Respecte el diagnòstic del xantoastrocitoma, pensem que podia estar present des de l'inici del diagnòstic del NHL. La RM realitzada al diagnòstic del NHL mostrava canvis nodulars en el cerebel que es van diagnosticar com afectació del sistema nerviós central pel limfoma, en un altre centre. Al finalitzar el tractament del NHL les imatges de la RM no s'havien modificat; això es va interpretar com a malaltia refractària en el sistema nerviós central. Per aquest motiu es va tractar amb irradiació cranioespinal. Quan vam rebre el pacient i es va realitzar una biòpsia de la lesió, aquesta no va ser diagnòstica de NHL residual sinó de canvis inespecífics. En aquells moments es pensà que els canvis a nivell de sistema nerviós central eren pel tractament i es decidí seguiment. Amb els anys, aquests canvis en la RM van presentar un lent creixement fins la decisió de nova biòpsia amb el diagnòstic d'astrocitoma. Tot i que no podem assegurar que els dos tumors es presentaren de manera simultània en l'absència de biòpsia prèvia a la químic- i radioteràpia, i malgrat és conegut que la seva joventut en el moment de la radioteràpia és un factor de risc per desenvolupar una segona neoplàsia com un astrocitoma maligne, pensem que la coincidència dels dos tumors és una hipòtesi raonable, basant-nos en l'existència de la lesió en el moment del diagnòstic del limfoma, la manca de resposta al seu tractament, el curt període de latència i la benignitat de l'astrocitoma.

Després de la resecció incompleta de l'astrocitoma de baix grau, la decisió del comitè de tumors va ser el seguiment estricte del pacient sense altre tractament adjuvant. Des d'aleshores s'han realitzat controls clínics i amb RM. Un any després de la neurocirurgia, les restes tumorals es mantenen estables i sense repercussió clínica.

En conclusió, la IDCV és una alteració immunològica heterogènia i complexa en la que els pacients pediàtrics es poden presentar amb malignitat. Donat que no hi ha cap fenotip immunològic ni clínic clarament associat amb un increment del risc de desenvolupar malignitat, recomanem realitzar cribratge i prevenció dels factors modificables de càncer en tots els pacients amb IDCV independentment de la seva edat. Endemés, en els pacients pediàtrics amb immunodeficiència i limfoma s'hauria de considerar la recerca de defectes genètics.

El pacient **P15** no està inclòs en l'article ja que es va diagnosticar aleshores la mutació en el gen *PIK3R1*. Cal dir que la *pacient 2* de l'article correspon a la pacient **P13** que actualment també coneixem portadora de la mutació en el gen *LRBA*. Tot i que els 4 pacients presenten el limfoma a una edat precoç (entre els 4 i 12 anys) podem diferenciar clarament 2 comportaments diferents segons el grup. En els pacients amb limfoma del **Grup 2** la neoplàsia s'inicia anys després de l'inici dels símptomes (infeccions i enteropatia) que havien conduït al diagnòstic d'IDCV i que eren molt precoços, a l'any d'edat. En els del **Grup 3** el limfoma és en una pacient el primer símptoma seguit posteriorment de citopènia autoimmunitària i en l'altre va precedir d'un estancament ponderal d'aproximadament un any d'evolució. També observem que en els pacients del **Grup 2** s'identifica el VEB per PCR en el tumor a diferència dels del **Grup 3**, concordant amb la literatura on es descriu que no s'identifica el VEB en la majoria de limfomes de pacients amb IDC (27)(26). Analitzant els 4 pacients es segueix mantenint el fet que no hi ha cap fenotip clínic ni immunològic associat al risc de neoplàsia, però si queda palès que la meitat dels pacients amb limfoma presenten una immunodeficiència diferent a la IDC i es fa necessari l'estudi genètic en aquests pacients.

### **Poblacions limfoides, subpoblacions B i T i estudi proliferació**

L'estudi comparatiu dels nostres resultats amb els de les diferents sèries de pacients amb IDC (i entre sèries) respecte les poblacions limfoides i les subpoblacions B i T es fa quasi impossible: segons l'estudi revisat s'utilitzen valors al diagnòstic o en el moment de l'estudi, les dades es donen com a mitjanes o com a medianes, en les sèries pediàtriques o que inclouen pacients pediàtrics no es tenen en compte els diferents rangs de normalitat segons l'edat del pacient, per obviar la majoria de biaixos es classifiquen els pacients com a valor alterat (baix o elevat segons la variable) o normal, i es compara amb les sèries que ofereixen aquestes dades.

En l'estudi de l'EUROclass s'evidencià: (1) el nombre de cèl·lules B està discretament disminuït en un 40-50% dels pacients i menys del 10% tenen cèl·lules B en  $\leq 1\%$ , (2) una associació de la disminució del nombre de cèl·lules B memòria commutades i expansió de les CD21<sup>low</sup> ( $>10\%$ ) amb esplenomegàlia i malaltia granulomatosa i (3) una expansió de les cèl·lules B transicionals ( $>9\%$ ) en els pacients amb limfadenopatia (39). En una sèrie

europea de pacients adults el 73% tenien percentatges normals o elevats de cèl·lules B i el 24% baixos (17) i en la sèrie de Teheran el 49,3% tenien limfòcits B disminuïts (13). Les cèl·lules B memòria commutades estan disminuïdes en el 80-90% dels pacients amb IDCV (25) i en el 39,3% dels pacients són  $\leq$  al 2% (associat a major requeriment d'antibiòtics) (73). Estudis com el de Patuzzo mostren una expansió de les cèl·lules B CD21<sup>low</sup> en pacients tant amb PTI com amb IDCV, en aquest darrer grup els afectes de PTI presentaven major percentatge d'aquestes cèl·lules respecte els no afectes (82).

Les nostres dades són en general comparables a les dades publicades en les diferents sèries europees amb un 40% de pacients amb limfopènia i limfopènia B i un 4% amb menys d'un 1% de cèl·lules B. La majoria tenen disminució de les cèl·lules memòria commutades tant en valor absolut com percentatge, i aproximadament la meitat menys del 2% i/o de 5 cèl·lules/mm<sup>3</sup>, els pacients amb expansió dels limfòcits B CD21<sup>low</sup> presenten autoimmunitat, però els pacients amb expansió de les cèl·lules B transicionals no presenten limfadenopatia.

S'ha descrit reducció en el nombre absolut de cèl·lules T CD4 totals i CD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>, així com disminució del nombre de cèl·lules T reguladores CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> en el subgrup de pacients amb autoimmunitat, granulomes, esplenomegàlia i una expansió de les cèl·lules B CD21<sup>low</sup> (25). En la sèrie de Resnick es troba una disminució de cèl·lules T CD4<sup>+</sup> en el 29% dels pacients (18), en el 16,6% en la d'Ogershok (23) i en la de Mohammadinejad en el 33,3% i també disminució dels limfòcits T en el 7,2% dels pacients d'aqueta sèrie (13). En la sèrie de Chapel de 2008 troben que el percentatge de cèl·lules T CD8<sup>+</sup> al diagnòstic eren menors en els pacients que desenvolupen autoimmunitat (7). També pot haver-hi una expansió en el nombre de cèl·lules T CD8<sup>+</sup> trobant una inversió del quocient CD4/CD8 (25). En l'estudi DEFI quan s'analitzen els pacients del grup de només infeccions es troben les següents alteracions: disminució en el nombre de limfòcits totals i en el de les poblacions B, T (sobretot CD4<sup>+</sup>) i NK, disminució en les cèl·lules B de memòria commutades i en les cèl·lules plasmàtiques i respecte les cèl·lules T disminució de les preimmunes/naïf i major freqüència de CD8<sup>+</sup> HLA-DR<sup>+</sup> (activades). Quan s'analitzen els grups amb complicacions es mostra un increment d'aquestes alteracions i s'afegeix un augment de la població CD21<sup>low</sup> en tots els grups i una disminució de les cèl·lules T

reguladores en el grup de pacients amb limfoproliferació i citopènia autoimmunitària (no en el d'enteropatia) (72). Els pacients amb IDCV presenten una disminució en els nivells de cèl·lules T reguladores més pronunciat en el grup de pacients amb malalties autoimmunitàries i esplenomegàlia i un augment de les cèl·lules pro-B10 funcionals també associat a autoimmunitat (83). Resultats semblants a les dades de la nostra sèrie amb una tercera part dels pacients amb limfopènia T a expenses de cèl·lules T CD4+, una inversió de la ràtio CD4/CD8 en el 24 % dels pacients i cèl·lules NK majoritàriament en rangs de normalitat. També trobem una majoria de pacients amb activació crònica (limfòcits T HLA-DR+) i disminució de les cèl·lules T reguladores. El grup de l'estudi DEFI assenyalava un subgrup de pacients amb alteració cel·lular T que anomenen LOCID ("*Late Onset Combined Immunodeficiency*") caracteritzat per  $< 200$  cèl·lules T CD4+/mm<sup>3</sup> o infeccions oportunistes (84), no trobant pacients amb aquestes característiques en la nostra cohort.

En el nostre estudi la majoria de pacients presenten un proliferació a mitògens normal (88 %), concordant amb la normalitat de tots els pacients de la sèrie d'Ogershok (23) i a gran diferència de la de Resnick amb alteració en la meitat dels pacients (18).

#### **Estudis de funció pulmonar, estudis d'imatge: ecografia abdominal, radiologia i/o TC toràcica**

Aproximadament el 60 % dels pacients amb immunodeficiències humorals presenten canvis pulmonars. En aquest sentit el 2010 es publica una revisió de 26 articles (6 exclusivament pediàtrics) de pacients amb IDCV en relació als estudis pulmonars i les troballes patològiques. A la radiologia toràcica les lesions més descrites són la fibrosi bronquial i l'engruiximent de la paret bronquial, seguides de les bronquièctasis i les lesions del parènquima pulmonar, excepte els nòduls, la resta de lesions predominen a lòbul mig i inferiors i entre el 0 i el 42 % presenten radiologies normals. En els estudis pediàtrics les bronquièctasis presenten percentatges similars a les sèries d'adults. En la tomografia computada d'alta resolució el més freqüent són les bronquièctasis associades a engruiximent de les parets bronquials i a taps de moc; en els pacients pediàtrics la incidència de les complicacions pulmonars és menor i són rares les complicacions com cavitació, bul·les, emfisema i atrapament aeri. L'espirometria és normal en el 27-78% dels

pacients, sent el patró obstructiu més freqüent que el restrictiu. El 27% dels pacients que presenten bronquièctasis en la tomografia computada tenen radiografies normals. El patró restrictiu s'associa a fibrosi en la radiologia i el patró obstructiu a emfisema, bul·la, bronquièctasi i atelèctasi. La tomografia computada i l'espirometria són proves que es complementen (85). Posteriorment, un estudi en 25 pacients pediàtrics ingressats en els que es realitza tomografia computada toràcica presenten limfadenopatia en el 66,7 %, bronquièctasi en el 50%, atrapament aeri el 33,3% i engruiximent de la paret bronquial el 33,3 %, sent el grup de 13 a 17 anys en el que hi ha major percentatge de troballes patològiques (86).

D'acord amb la literatura publicada la majoria dels nostres pacients presenten espirometries normals i quan mostren alteració predomina el patró obstructiu. La majoria de les tomografies computades alterades les presenten els pacients adolescents (12-15 anys) posant de manifest que la patologia pulmonar en la IDCV és progressiva i apareix amb els anys d'evolució de la malaltia. També coincident amb les publicacions la majoria dels nostres pacients amb tomografia computada alterada (5/6) presenten radiologies normals o amb canvis infecciosos, evidenciant la necessitat de realitzar tomografia computada en aquests pacients per al correcte diagnòstic. Per evitar l'exposició a la radiació en pacients amb radiosensibilitat augmentada com és el cas dels pacients amb IDCV alguns estudis han comparat l'ús de la ressonància magnètica respecte la tomografia computada, un d'aquests estudis que compara les imatges pulmonars de pacients amb IDCV obtingudes per tomografia computada i per ressonància magnètica mostra que les troballes són comparables per a les alteracions bronquials i parenquimatoses moderades i greus, però la ressonància magnètica té menor sensibilitat per detectar alteracions bronquials lleus (per baixa sensibilitat en avaluar alteracions bronquials perifèriques), sent la tomografia computada l'estàndard de referència per a la detecció dels canvis pulmonars inicials (87). Un estudi posterior en pacients amb immunodeficiència primària mostra els mateixos resultats, així com que la ressonància magnètica detecta pitjor l'extensió de les bronquièctasis amb baixa concordança en l'avaluació del nombre de generacions bronquials (88). Així, la tomografia computada es presenta com l'estàndard de referència per al diagnòstic inicial dels pacients, però la ressonància magnètica pot tenir el seu paper en el seguiment dels pacients amb l'avantatge de la manca d'irradiació i



tenint en compte les limitacions de cost i disponibilitat endemés de les limitacions tècniques prèviament descrites.

La valoració de l'esplenomegàlia es realitza de diferent forma al llarg dels estudis no requerint tots de proves d'imatge i acceptant l'exploració física per al diagnòstic (7). En els estudis que requereixen de mesura per ecografia o tomografia computada consideren esplenomegàlia a partir de 4,7x11 cm (39) o major a 11 cm de diàmetre longitudinal (12). En el nostre estudi hem considerat necessari que en tots els pacients es realitzés ecografia abdominal, prova no dolorosa i sense risc d'irradiació, amb mesura de la melsa i hem tingut en compte l'edat dels pacients per a determinar la normalitat o no de la mesura. Endemés els valors de referència que utilitzem al nostre centre consideren com a normals valors fins a 13 cm de diàmetre bipolar en pacients de sexe masculí de més de 15 anys, així a la nostra mostra hi ha tres pacients amb mesures entre 11 i 13 cm que hem considerat normals i en altres sèries comptarien com esplenomegàlia. Com en altres sèries (12) tampoc hem trobat diferència entre sexes, també hem observat major prevalença d'esplenomegàlia en el **Grup 2** i en el **Grup 3** els pacients que tenen esplenomegàlia associen més pneumònia intersticial limfocítica i malaltia autoimmunitària organoespecífica més citopènia.

### **Virus limfotròfics**

L'interès de l'estudi dels virus limfotròfics en la IDCV ve donat tant pel fet que en tractar-se d'una immunodeficiència humoral s'han descrit pacients amb alteració simultània de la immunitat cel·lular i en aquest àmbit poden tenir el seu paper, com perquè aquests virus s'han relacionat amb alteracions limfoproliferatives que veiem en alguns pacients amb IDCV i per tant en la seva possible implicació en l'evolució a limfoma. L'herpesvirus humà 8 i el virus d'Epstein-Barr són gamma herpesvirus humans capaços d'infectar limfòcits i produir alteracions limfoproliferatives, els propis mecanismes de supervivència dels virus a les cèl·lules poden conduir a la proliferació incontrolada de les cèl·lules i per tant la limfoproliferació, així, els pacients amb immunodeficiències tenen un risc augmentat de desenvolupar neoplàsies causades per aquest virus (89). La comprensió dels mecanismes pels quals els productes de gens virals afecten la supervivència de les cèl·lules tumorals i la proliferació aporten informació sobre proteïnes cel·lulars importants i les vies que

podrien ser diana (com NF-kB, mTOR) per conduir a un millor tractament (89). S'ha descrit l'herpesvirus humà 8 associat al desenvolupament de malaltia limfoproliferativa en context d'immunodeficiència secundària (infecció per VIH i en transplantament d'òrgans) i en l'estudi de Wheat en el 67 % dels pacients amb IDCV que presentaven malaltia pulmonar intersticial limfocítica o granulomatosa es detecta el genoma de l'herpesvirus humà 8 respecte el 4,8 % dels pacients amb IDCV sense malaltia pulmonar i cap dels pacients amb altres immunodeficiències que rebien gammaglobulines intravenoses o dels donants de sang sans (90). En la publicació de Chua, sent una cohort de 50 pacients amb IDCV on realitzen detecció de l'herpesvirus humà 8 per reacció en cadena per la polimerasa en sang perifèrica no troben cap positivitat (27).

En l'estudi en la nostra sèrie tampoc trobem cap pacient amb positivitat per l'herpesvirus humà 8, en canvi hem trobat positivitat per l'herpesvirus humà 7 en 3 pacients, dos d'ells corresponents al **Grup 2**, els 2 amb immunodeficiències que afecten la via mTOR, els dos amb infeccions clíniques per citomegalovirus, el pacient amb limfoproliferació policlonal i limfoma amb virus d'Epstein-Barr positiu al tumor i el pacient amb pneumònia intersticial limfocítica amb serologia positiva a virus d'Epstein-Barr, previ a tractament substitutiu amb gammaglobulines. Respecte a infecció per citomegalovirus i/o virus d'Epstein-Barr hi ha demostració que en més de la meitat dels pacients amb IDCV trobem cèl·lules T CD8+ específiques per a citomegalovirus i/o virus d'Epstein-Barr i amb correcta resposta de la immunitat cel·lular, en alguns pacients es dona una resposta exagerada al citomegalovirus que podria causar o exacerbar l'enteropatia en la IDCV o contribuir a altres complicacions inflamatòries d'aquesta (76). En aquest sentit el tercer pacient del **Grup 2** que presenta una infecció intestinal persistent per citomegalovirus té una enteropatia de difícil control des de l'any d'edat i es detecta el virus d'Epstein-Barr per reacció en cadena per la polimerasa en sang perifèrica; així tots els pacients del **Grup 2** presenten infeccions per virus limfotròfics de forma significativa respecte els del **Grup 3** i endemés infeccions per més d'un virus limfotròfic. Les diferències trobades en les sèries de pacients amb IDCV ens han de fer pensar que són un grup de pacients erròniament diagnosticats d'IDCV i que la infecció per qualsevol dels virus limfotròfics podria donar lloc a les complicacions limfoproliferatives i/o inflamatòries d'aquests pacients.

## MBL

El sistema del complement ofereix defensa immediata contra les infeccions i té efectes proinflamatoris, es considera tant en el sistema immunitari innat com adaptatiu. La lectina o proteïna d'unió a mannososa (MBL) que participa en l'activació del complement està codificada pel gen *MBL2* en el braç llarg del cromosoma 10, en humans els gen *MBL1* no codifica per a una proteïna funcionant. La proteïna MBL està codificada per quatre exons, l'al·lel normal o salvatge s'anomena A i hi ha 3 mutacions en l'exó 1 que codifiquen pels al·lels B, C i D que es designen com genotip 0, aquestes variants són més inestables, de menor pes molecular i unió menys eficient a la mannososa per activar el complement. Endemés, hi ha una sèrie de polimorfismes bàsicament a la regió promotora de la MBL (H/L, Y/X, P/Q) que generen set haplotips (HYPA, LYPA, LYQA, LXPA, HYPD, LYPB, LYQC) més freqüents que s'associen als nivells de MBL en sèrum (91). La variant B apareix en el 25% de la població euroasiàtica, la C és rara en caucàsics i la D es presenta en menor freqüència que B i C. L'haplotip LXPA (baixa activitat) està present en el 25% dels caucàsics i per tant és la major causa de deficiència de MBL en aquest grup. L'haplotip variant LYPB és el més freqüent en caucàsics (12%) (92). En la nostra sèrie la classificació entre productors alt, baix o deficient s'ha realitzat en funció dels haplotips i no dels valors de MBL en sèrum pel fet de ser un grup pediàtric i per tant els valors varien en funció de l'edat (93).

En una sèrie de pacients de Teheran troben disminució de l'al·lel A i sobreexpressió del B en els pacients amb IDCV respecte els controls sans i una sobreexpressió de l'haplotip LYPB (94), en canvi en la nostra sèrie la proporció de pacients amb al·lel A i B estan en concordança amb la població control, així com la distribució en genotip salvatge en homozigosi (A/A) és la més freqüent seguida de genotip en heterozigosi (A/0), a diferència de la sèrie anterior on predomina aquest darrer genotip entre els pacients. Tampoc troben en la nostra sèrie una sobreexpressió de l'haplotip LYPB dels pacients amb IDCV respecte els controls sans, tot i que com en població general és l'haplotip variant més freqüent.

En altres sèries com la de Mullighan (95) o Litzman (96) han trobat associació entre els productors baixos de MBL i l'inici més precoç de la clínica o correlació inversa entre les

infeccions respiratòries pulmonars i les bronquièctasis i els nivells de MBL, no confirmats en l'estudi d'Aghamohammadi (94) on no troben associació entre l'edat d'inici ni de diagnòstic ni en les manifestacions clíniques amb els diferents genotips ni haplotips de la MBL, coincident amb les troballes en el nostre estudi on tampoc s'identifiquen diferències en la clínica dels pacients en funció de la producció de MBL.

Tot i que semblaria desitjable tenir nivells normals de MBL, en certes circumstàncies els nivells disminuïts mostren avantatges, com en el dany per isquèmia/reperfusió (92). En pacients sense immunodeficiències no es troba relació entre la gravetat de les infeccions i el dèficit de MBL i s'identifiquen pacients amb greu dèficit sense infeccions, així el dèficit de MBL tindria rellevància des del punt de vista infeccios quan s'associa a altre immunodeficiència. Les diferències trobades entre estudis en pacients amb IDCV respecte la influència dels dèficit de MBL en les infeccions i complicacions pulmonars es podrien explicar per la redundància del sistema immunitari i per l'etiologia multifactorial de l'IDCV, així en funció de la via o vies alterades en cada pacient pot fer que la deficiència de MBL tingui o no rellevància.

#### **APRIL (CD256)**

L'activador transmembrana i modulador de calci i lligand de ciclofilina (TACI) reconeix factors importants per a la maduració i supervivència de les cèl·lules B, com el factor d'activació de les cèl·lules B (BAFF) i al lligand inductor de proliferació (APRIL), trobant-se ambdós elevats en el sèrum dels pacients amb malalties sistèmiques autoimmunitàries. APRIL alhora també és reconegut per un altre receptor *B-cell maturation antigen* (BCMA) amb funcions complementàries. Donat que en la IDCV es presenten malalties autoimmunitàries s'han avaluat els nivells d'aquest lligand, trobant-se medianes del lligand inductor de proliferació (APRIL) de 34,5 ng/mL en pacients adults respecte 2,0 ng/mL en controls ( $p < 0,0001$ ), però no s'ha pogut definir associació amb el nombre o percentatge de cèl·lules B, cèl·lules B memòria, cèl·lules B memòria commutades ni els nivells d'IgG pretractament; tampoc mostren associació amb malaltia autoimmunitària, limfadenopatia, esplenomegàlia, infiltrats limfoides ni malaltia granulomatosa (97). Altres sèries també troben nivells elevats del factor d'activació de les cèl·lules B (BAFF) i del lligand inductor de proliferació (APRIL) en els pacients amb IDCV sense relació amb les

manifestacions clíniques (98). En un estudi amb tres pacients afectes d'IDCV (8, 9 i 20 anys) presentaven una mediana del lligand inductor de proliferació (APRIL) de 47,39 ng/mL respecte 2,46 ng/mL en controls sans (28 nens), també mostren una correlació inversa entre els nivells de BAFF i lligand inductor de proliferació (APRIL) i l'edat en els controls sans (N = 43) (99). Aquesta correlació dels nivells d'APRIL amb l'edat no la trobem en la nostra sèrie, la qual cosa es podria explicar per la poca dispersió d'edats en el nostre grup de pacients en el moment de fer aquesta determinació o pel fet de ser immunodeficients i no controls sans com en l'estudi; potser seria necessària una major mostra de pacients i de diferents edats per comprovar-ho.

En una sèrie amb pacients adults afectes d'anèmia hemolítica autoimmunitària els nivells del lligand inductor de proliferació (APRIL) estan significativament elevats respecte els controls sans ( $1.529,0 \pm 150,1$  pg/mL,  $696,7 \pm 178,3$  pg/mL,  $p < 0,001$ ), i després de tractament i control de la malaltia els nivells disminueixen a valors dels controls; així és plausible que el lligand inductor de proliferació (APRIL) pugui reflectir l'activitat de la malaltia (100). En la nostra sèrie els pacients presenten nivells del lligand inductor de proliferació (APRIL) elevats respecte els controls en pacients pediàtrics, i com en la resta de publicacions tampoc hem trobat associació amb les diferents manifestacions clíniques (malaltia autoimmunitària, citopènia autoimmunitària, limfoma, proliferació policlonal, pertànyer al grup de no complicacions).

### **Vacuna antipneumocòccica 23-valent**

La comprovació de la correcta resposta vacunal és un dels criteris diagnòstics en la IDCV. En el consens publicat el 2015 per les diferents societats es recomana estudiar la resposta vacunal a antígens T-dependents (antígens proteic o glicoproteids) i T-independents (antígens polisacàrids), i demostrar almenys alteració en una d'elles (17). La vacuna contra el pneumococ 23-valent és la més utilitzada per avaluar la resposta T-independent i es pot realitzar en individus a partir de l'any d'edat (17)(101). En el nostre centre la comprovació d'aquesta resposta es realitza amb la vacuna antipneumocòccica 23-valent mitjançant la tècnica d'ELISA amb quantificació combinada IgG contra el pneumococ. En la nostra pràctica clínica habitual no tenim disponibilitat per realitzar la determinació per serotips que seria la tècnica recomanada per avaluar aquesta resposta

(56). Per aquest motiu, vam seleccionar en un grup de 14 pacients (dels 22 als que havíem administrat la vacuna), alguns amb nivells protectors i altres sense segons valoració per tècnica d'ELISA ( $>250$  U/L) i alguns en tractament amb gammaglobulines i altres sense, per realitzar la determinació per serotips. Per avaluar les respostes en els nostres pacients hem utilitzat la publicació sobre interpretació de la vacunació en pacients amb immunodeficiències primàries d'Orange (56). Així, considerem resposta normal si s'assoleixen nivells protectors ( $\geq 1,3$   $\mu\text{g/mL}$ ) amb un increment mínim de 2 vegades els títols basals en el 50% o més dels serotips testats en pacients de 2 a 5 anys i en el 70% dels serotips testats en pacients de 6 a 65 anys d'edat. S'acostumen a testar 12-14 serotips. Els pacients amb resposta deficient es classifiquen en 4 grups (greu, moderada, lleu i de memòria).

En un estudi en 21 pacients adults amb IDCV en tractament substitutiu amb gammaglobulina, avaluen resposta IgG i/o IgM front a 10 serotips del pneumococ i obtenen resposta protectora en 2 (en els 2 IgM i en 1 també IgG) dels 19 pacients vacunats amb la vacuna antipneumocòccica 23-valent (102). En un estudi amb 10 pacients pediàtrics amb IDCV es va suspendre el tractament substitutiu durant 2 mesos per administrar la vacuna antipneumocòccica 23-valent, es realitzà determinació d'IgG contra pneumococ el dia de l'administració de la vacuna i a les 4 setmanes, només un pacient va doblar nivells (0,6 a 1,2  $\mu\text{g/dL}$ ) (103). No vam considerar indicada la suspensió del tractament amb gammaglobulines en els nostres pacients, el que si es va comprovar era l'estabilitat en els nivells d'IgG i en les dosis administrades en els darrers 6 mesos. El nostre grup de 14 pacients avaluats és similar al publicat mostrant que la majoria de pacients presenten una resposta vacunal alterada. Només 2 pacients amb resposta normal a l'administració de la vacuna, un d'ells del **Grup 1** i l'altre del **Grup 3**. Els restants 12 pacients (tots del **Grup 3** i la meitat en tractament substitutiu) presenten resposta alterada, així, el 92 % dels pacients del **Grup 3** presenten resposta alterada a la vacuna contra el pneumococ avaluada per serotips.

En una publicació recent, es van avaluar al llarg d'un any els nivells d'anticossos front a 6 serotips del pneumococ en 22 pacients adults amb immunodeficiències primàries (12 d'ells amb IDCV) en tractament substitutiu amb diferents marques de gammaglobulines

intravenoses. Només el 28,6% dels pacients tenien nivells superiors a 1,3 µg/mL en els sis serotips en les 4 determinacions, no existint correlació entre els nivells d'IgG i els anticossos específics pel pneumococ (104). En el mateix treball també troben una àmplia variació de nivells d'anticossos específics entre les diferents marques i lots, endemés les concentracions més elevades trobades per al serotip 19F en els preparats no es troba en les mostres dels pacients on el serotip 14 és el que es troba més elevat, per tant valorar els nivells en els preparats no prediu les concentracions en els pacients (104). Els 6 pacients en tractament substitutiu de la nostra sèrie avaluats per serotips tampoc presenten nivells protectors per als 15 serotips avaluats, més encara, la meitat no presenten nivells protectors per cap dels 15 serotips. Per tant, el tractament substitutiu no protegeix de forma completa els pacients i poden presentar infeccions pneumocòcciques.

En un estudi amb 24 pacients (11 pacients amb IDCV i 13 pacients amb dèficit específic d'anticossos) es comparà la resposta a la vacuna antipneumocòccica 23-valent mitjançant resposta específica per a 11 serotips (alterada en tots els pacients) i resposta combinada IgG per ELISA: s'observaren respostes protectores en la determinació combinada en el 42% (10/24) dels pacients, en 3 d'aquests pacients cap dels 11 serotips testats mostrava resposta, així aquesta determinació pot emascarar la presència d'immunodeficiència fins en el 42% dels pacients (105). En la nostra sèrie, en els 13 pacients del **Grup 3** on s'ha fet la comparació, els 6 pacients en tractament substitutiu presenten manca de resposta per serotips i en canvi tots presenten nivells protectors en la determinació pre- i postvacunal de la resposta combinada (cap duplica nivells). Dels 7 pacients sense tractament, un presenta resposta normal per serotips i protectora en la combinada sense duplicar nivells; potser no duplica perquè partia de nivells basals protectors i elevats, dels altres 6 només un no presenta nivells protectors en la valoració combinada. Davant aquests resultats es fa evident que la resposta a la vacuna antipneumocòccica 23-valent s'ha d'avaluar per serotips ja que si ho fem amb la resposta combinada podem deixar de diagnosticar fins el 83% (5/6) dels dèficits de resposta.

## Estudi de les variables segons el sexe

En aquest apartat s'analitzen les dades dels 21 pacients amb diagnòstic d'IDCV (**Grup 3**) avaluant els resultats de les variables de l'estudi en funció del sexe. Com ja s'ha comentat, d'acord amb els resultats de la literatura la nostra sèrie té un predomini de pacients del sexe masculí (76%). Tot i que a l'edat pediàtrica predominen els pacients de sexe masculí quan comparem l'edat al primer símptoma o al segon símptoma o l'edat al primer símptoma infeccios no trobem diferències entre els pacients de sexe masculí i femení, així, les pacients de sexe femení que inicien els símptomes d'IDCV a l'edat pediàtrica ho fan a les mateixes edats i també respecte als símptomes infecciosos que els pacients de sexe masculí.

En la sèrie de Resnick troben diferències significatives en l'edat al diagnòstic (menor per al sexe masculí) però no en l'edat d'inici dels símptomes (18), en la sèrie de Gathmann els pacients de sexe masculí tenen menor edat d'inici de símptomes, edat de diagnòstic i retard diagnòstic (11). En la nostra sèrie que a diferència de les anteriors analitza només pacients de debut en l'edat pediàtrica no trobem cap d'aquestes diferències.

S'han descrit en les pacients de sexe femení nivells més elevats d'IgM i major nombre de cèl·lules B memòria commutades, sense diferències amb els pacients de sexe masculí en els nivells d'IgG, IgA, ni en el nombre de cèl·lules B, T ni T CD4+, ni en l'estudi de proliferació (18), en els nostres pacients no trobem diferències per sexes en els valors de les immunoglobulines ni en les subclasses d'IgG, referent a les poblacions limfoides i les subpoblacions B i T no hem analitzat en valors absoluts per les diferències de rangs de normalitat degut a les diferents edats dels pacients però si trobem major limfopènia, limfopènia B, limfopènia T i proliferació alterada de predomini en les pacients de sexe femení, encara que les dues darreres variables sense significació estadística.

A la sèrie de Resnick no troben diferències en prevalença de malaltia pulmonar crònica ni malaltia autoimmunitària per sexes, però si en els limfomes, més freqüents en el sexe femení (18) i en la de Gathmann observen com els pacients de sexe masculí que inicien la clínica abans dels 10 anys tenen major tendència a infeccions que a complicacions no infeccioses (11). En aquest mateix sentit cap dels pacients de sexe femení de la nostra



sèrie pertany al fenotip de no complicacions respecte el 87 % dels de sexe masculí (o el 50%, si com en la sèrie prèvia incloem les malalties autoimmunitàries organoespecífiques com complicacions); així les pacients de sexe femení presenten de forma significativa més malalties autoimmunitàries, citopènies, associació de diverses d'elles, pneumònia intersticial limfocítica, limfoprolifерació policlonal, mal pronòstic 1 (presència de malaltia pulmonar crònica, neoplàsia i/o limfoprolifерació policlonal) i pertànyer a més d'un fenotip que els pacients de sexe masculí.

Així, el diagnòstic d'IDCV en una pacient de sexe femení i edat pediàtrica ens obliga a un seguiment més proper i a la recerca de les possibles complicacions per establir un tractament adequat i precoç.

### **Classificació pediàtrica de Yong**

El 2010 Yong va proposar una classificació dels pacients pediàtrics amb IDCV dividint els pacients en dos grups en funció del nombre de cèl·lules B memòria commutats: Grup I (< 5 cèl·lules B memòria commutades/mm<sup>3</sup>) i Grup II ( $\geq$  5 cèl·lules B memòria commutades/mm<sup>3</sup>), presentant els pacients del primer grup major risc de complicacions (32). En el nostre grup de 21 pacients dividits en Grup I i II les característiques de sexe, raça i edat al diagnòstic, com en la sèrie prèvia eren comparables entre grups.

En la sèrie de Yong els nivells d'IgG, IgM i IgA són menors en el Grup I, tot i que en l'anàlisi no inclouen els menors de 5 anys per evitar biaixos; en la nostra sèrie amb les variables estandarditzades no es troben diferències entre grups, tot i que la tendència és a valors menors d'IgM en el Grup II, així com major tendència a tenir les tres immunoglobulines disminuïdes en el Grup II respecte del Grup I.

Tant en la cohort de Yong com en la van de Ven (33) es confirma una disminució significativa del nombre de cèl·lules B, T i T CD4 en els pacients del Grup I, a diferència que en els nostres pacients on tot i que hi ha una disminució en els pacients de Grup I només és significatiu per a la limfopènia T. Probablement les diferències en els resultats poder ser perquè en els dos primers s'utilitzen els valors en nombres absoluts sense tenir en compte les edats dels pacients i perquè en el Grup I de van de Ven els pacients són

més grans que en el Grup II, en canvi en els nostre estudi està calculat a partir dels pacients que tenen valors inferiors al seu rang de normalitat.

En quan a freqüència d'infeccions és major i són més greus en el Grup I respecte el Grup II en la sèrie de Yong, tot i que el la de van de Ven també troben infeccions greus en el Grup II, en la nostra sèrie trobem major prevalença de pneumònia ( $p$  0,031) i de les infeccions pulmonars significatives en el Grup I, no presentant els nostres pacients infeccions greus (meningitis, sèpsia).

Com en la sèrie de Yong trobem major percentatge de pacients amb malalties autoimmunitàries en el Grup I, i com en la sèrie de van de Ven, no de manera exclusiva; el mateix comportament s'observa respecte les neoplàsies.

En la nostra sèrie la patologia pulmonar crònica (malaltia pulmonar crònica, bronquièctasi, pneumònia intersticial limfocítica i asma no al·lèrgica) es concentra en els pacients del Grup I com en la sèrie de Yong, afectant també a pacients del Grup II en la de van de Ven.

Tot i que en les tres sèries es mostra major prevalença d'algunes complicacions en el Grup I les diferències no són estadísticament significatives (excepte per la pneumònia en els nostres pacients), i en la nostra sèrie observem una major proporció de pacients amb citopènia autoimmunitària, enteropatia, neoplàsia i adenopaties persistents en el Grup II, amb aquestes dades es fa difícil concloure com en les dues publicacions citades que els pacients del Grup I són de major risc i requereixen un seguiment més intensiu respecte el Grup II.

L'etiologia multifactorial de la IDCV ens pot explicar els diferents fenotips clínics, així, qualsevol pacients amb complicacions no infeccioses o amb infeccions greus o persistents tot i tractament substitutiu serien susceptibles d'un seguiment intensiu i de la recerca d'un diagnòstic de certesa, independentment dels paràmetre immunològics.

### **Classificació pediàtrica de Piatosa**

La proposta de Piatosa és relacionar els perfils de maduració de la cèl·lula B amb els fenotips clínics per identificar pacients amb pitjor pronòstic i evitar complicacions; en

aquest sentit estableix una classificació per pacients pediàtrics amb IDCV en sis grups (50). Grup I (4 %): disminució limfòcits B totals, transicionals, memòria i plasmablastes amb limfòcits B naïf normals; Grup II (18,4 %): disminució limfòcits B, acumulació de transicionals i disminució dels següents estats maduratiu; Grup III (49%): acumulació de limfòcits B preimmunes/naïf i disminució dels següents; Grup IV (24,5%): acumulació de cèl·lules B efectores naturals i disminució dels següents estadis maduratiu; Grup V (2%): disminució de plasmablastes, resta normals i Grup VI (2 %): sense defecte aparent en la maduració.

Com en la nostra sèrie la majoria de pacients pertanyen als Grups II, III i IV, però contràriament, no trobem que en el Grup II hi hagi un inici més precoç dels símptomes, ni major risc d'enteropatia, granuloma, citopènia o limfoproliferació; tampoc que el Grup IV presenti més malalties autoimmunitàries que el Grup III ni una major proporció de pacients de sexe masculí al Grup III. En la nostra sèrie trobem un risc augmentat d'al·lèrgia en el Grup II respecte el III i d'hiperplàsia limfoide en el Grup II respecte del Grup IV.

Tot i que la divergència de dades pot ser deguda al nombre limitat de pacients en les sèries, els resultats actuals fan que aquesta classificació pediàtrica no es pugui consolidar com una eina eficaç per identificar el pronòstic o els pacients amb major risc de complicacions.

### **EUROclass**

En l'estudi de l'EUROclass (39) s'exclouen els pacients de menys de 6 anys en el moment d'establir el fenotip B, en la nostra sèrie només hi ha un pacient de menys d'aquesta edat en el moment de l'estudi. Aquesta classificació pel fenotip de la cèl·lula B permet identificar algunes alteracions clíniques com limfadenopatia, esplenomegàlia i malaltia granulomatosa, però no predir malaltia autoimmunitària.

Les proporcions entre els diferents grups són similars als de la nostra sèrie, excepte per al grup smB-CD21<sup>norm</sup> més representat en la nostra sèrie respecte el grup smB-CD21<sup>lo</sup>. En els nostres pacients trobem associació de malaltia autoimmunitària amb expansió de les

cèl·lules smB+ CD21<sup>lo</sup> respecte les CD21<sup>norm</sup>, que no es manté en l'anàlisi de citopènia autoimmunitària, i no trobem cap de les associacions de l'EUROclass.

Les diferències entre les sèries les podem explicar per tractar-se de poblacions diferents (adults i pacients pediàtrics, proporcions entre sexes), amb característiques diferents (en la nostra sèrie no hi ha pacients amb malaltia granulomatosa però sí un elevat nombre de pacients amb malaltia autoimmunitària organoespecífica), pels diferents mecanismes que poden conduir a l'esplenomegàlia i en el fons perquè el diagnòstic d'IDCV segueix sent d'exclusió.

### **Estudi de les variables segons l'edat d'inici**

La majoria de sèries, a l'incloure pacients adults, quan estableixen el punt de tall per diferenciar els pacients amb una edat d'inici precoç dels símptomes ho fan als 10 anys, en la nostra sèrie també ho hem fet però hem establert un segon punt de tall als 5 anys, ja que als 10 anys només quedaven 4 pacients en els grup dels que iniciaven entre els 10 i 14 anys, ja que els que inicien més enllà (entre que el metge valora com a patològic i pensa en la possibilitat d'immunodeficiència i deriva el pacient a un centre especialitzat) són valorats a centres de referència d'adults. En la nostra sèrie tot i que tenim un predomini de pacients de sexe masculí no trobem diferències per sexe en l'edat d'inici, si trobem per qualsevol dels 2 nivells de tall diferències significatives en l'edat del primer símptoma i del primer símptoma infeccios així com de l'edat al diagnòstic, a tenir en compte que quan el nivell de tall són el 10 anys també trobem diferències en el retard diagnòstic escurçant-se en els d'inici tardà, cosa que s'explica donat que en la majoria el primer símptoma és infeccios i per tant valorar que les infeccions a partir dels 10 anys poden no ser habituals és més fàcil que les mateixes infeccions en un pacient de 3-6 anys.

En l'estudi DEFI (73) reporten que el 40% dels pacients inicien els símptomes abans dels 15 anys i d'aquests una tercera part abans dels 5 anys, semblant a les nostres dades on la meitat inicien abans dels 5 anys. En el mateix sentit, a la sèrie de Gathmann (11) el 33,7% dels pacients inicien els símptomes abans dels 10 anys i presenten major retard diagnòstic que els que inicien símptomes després dels 10 anys, com en el nostre grup d'estudi.

És interessant que hi hagi diferències estadísticament significatives pel fet de presentar malaltia autoimmunitària organoespecífica en els 2 punts de tall, de fet tots els pacients que presenten malaltia autoimmunitària organoespecífica en algun moment del seguiment inicien la clínica abans dels 10 anys, i el primer símptoma és majoritàriament infecció. Tot i que les malalties autoimmunitàries organoespecífiques no comportin una menor supervivència ni s'associïn a citopènia (40), ens ha de fer reflexionar el fet que totes les sèries pediàtriques presentin major proporció de pacients amb malaltia autoimmunitària organoespecífica que citopènia i en major proporció que en població general, potser són patologies no estrictament informades o infradiagnosticades en la població adulta, el que queda palès és que augmenten la complexitat de la IDCV en població pediàtrica.

### **Estat actual de la importància de l'estudi genètic en relació a les nostres dades**

La primera publicació de casos de pacients afectes d'IDCV va ser l'any 1953 per Olhagen (4), el 1973 s'inclou a la classificació d'immunodeficiències primàries publicada al *New England Journal of Medicine* (5) i el 1999 s'estableixen els criteris diagnòstics d'acord amb la Societat Europea d'Immunodeficiències (ESID) i el Pan American Group for Immunodeficiencies (PAGID) (1), definició que inclou criteris d'exclusió, implicant que no hi ha característiques patognomòniques i que tot i complir els criteris poden tenir altres patologies. En aquest sentit i veient la variabilitat existents en els pacients diagnosticats d'IDCV, en la classificació del 2009 de la Unió Internacional de Societats Immunològiques (IUIS) es va afegir el terme de "*disorders*" a la IDCV perquè més que una malaltia el terme agrupa un conjunt d'entitats (106). Com s'evidencia del seu nom els pacients mostren fenotips variables i al llarg dels anys s'han produït diferents intents per classificar els pacients tant des dels punt de vista immunològic (classificacions de Freiburg 2002, Paris 2003, EUROclass 2008 i per a pacients pediàtrics la de Yong 2010 i Piatosa 2013) com des del punt de vista clínic (Chapel 2008 i 2012), però, sorprenentment, després de més de seixanta anys de la seva primera descripció i sent la immunodeficiència primària simptomàtica més freqüent, en la publicació de l'ICON el 2015 (17) les diferents societats científiques implicades encara estan consensuant els criteris diagnòstics. El problema està en que per definir la IDCV ens basem en uns paràmetres que són característiques

clíniques i immunològiques comunes a altres immunodeficiències i en un diagnòstic d'exclusió que amb els anys i les noves tècniques diagnòstiques genètiques s'està fent cada vegada més ampli.

L'alteració en la producció d'anticossos està present en la IDCV i majoritàriament s'atribueix a un defecte de funció de la cèl·lula B, però es descriu la possibilitat d'estar causat per un defecte en la cèl·lula T o l'associació dels dos. La disfunció de les cèl·lules T pot ser de gravetat variable, així, el 2009 es descriu un grup de pacients dintre de la IDCV amb defecte T greu que correspondria a una immunodeficiència combinada d'inici tardà i que anomenen LOCID (*"Late Onset Combined Immunodeficiency"*) que es caracteritzen per presentar infeccions oportunistes i/o un recompte de cèl·lules T CD4+ inferior a 200 per microlitre, endemés de major prevalença d'esplenomegàlia, malaltia granulomatosa, malaltia gastrointestinal i limfoma (84). La idea d'excloure del grup d'IDCV els pacients amb defecte cel·lular greu es consolida en publicacions posteriors com la d'Ameratunga el 2014 (107) que estableix uns criteris diagnòstics més restrictius per al registre de pacients a la Societat Europea d'Immunodeficiències, rebutjant els pacients amb defecte T greu (definit per almenys dos dels següents criteris: nombre de cèl·lules T CD4+ inferior a 300, 250 o 200 per microlitre segons edat, percentatge de cèl·lules T CD4 naïf inferior a 25, 20 i 10% segons edat i absència de proliferació de cèl·lules T) i la de Bertinchamp el 2016 (36) que proposa una nova definició per considerar defecte T greu (recompte de cèl·lules T CD4+ preimmunes/naïf inferior a 20 per microlitre o presentar infeccions oportunistes) que permet diferenciar un grup de pacients, d'aproximadament el 20% dels diagnòstics d'IDCV, amb malaltia més greu, més complicacions i pitjor pronòstic.

Una vegada identificats i diferenciats aquest pacients amb defecte cel·lular greu del grup d'IDCV, aquesta segueix englobant un grup divers d'entitats algunes de les quals no podem seguir considerant en el grup de desordres de la IDCV, ni tant sols en el grup de defectes d'anticossos de la classificació de la Unió Internacional de Societats Immunològiques.

Aquest següent pas en la identificació de pacients que ja no podem considerar IDCV l'ha facilitat el diagnòstic genètic. Des de la dècada dels 70 que s'iniciaren les tècniques de seqüenciació del DNA amb el mètode de Sanger que permet seqüenciar un gen i

posteriorment amb les tècniques de seqüenciació massiva paral·lela o profunda publicades a partir del 2005 (41) s'han descobert una sèrie de mutacions en gens implicats en el fenotip de la IDCV que han permès diagnosticar correctament una part dels pacients que teníem sota aquest paraigües diagnòstic que representa la IDCV. Es descriu que en el 2-10% dels pacients amb IDCV es pot identificar una causa monogènica (17), però cada vegada trobem més evidència que la IDCV és una malaltia complexa i que molts dels pacients correspondran a alteracions poligèniques o multifactorials.

Les noves tècniques de seqüenciació massiva paral·lela han ajudat en la identificació de gens. El 2011 es publicà una sèrie de 363 pacients on mitjançant estudi d'associació del genoma complet (GWAS) (43) que avalua l'evidència d'associació entre les variants genètiques i les característiques hereditàries va permetre identificar associació amb la regió de l'antigen leucocitari humà (HLA) confirmat en estudis posteriors i mostrar múltiples nous locus que podien condicionar el desenvolupament de la IDCV i que explicarien la variabilitat de la malaltia i donar claus per entendre els mecanismes implicats en el ventall de complicacions clíniques de la IDCV. També la seqüenciació complerta de l'exoma (WES) en una mostra seleccionada de pacients amb diagnòstic d'IDCV (inici abans dels 10 anys d'edat, presència d'autoimmunitat o autoinflamació, limfopènia B o història familiar d'hipogammaglobulinèmia) i cribrant per 269 gens coneguts com causants d'immunodeficiència primària (44) permet identificar mutacions en el 30% dels pacients, millorant el seguiment en els pacients amb fenotips més greus.

La IDCV és en la majoria del casos esporàdica trobant història familiar en el 5-25% dels casos i identificant-se una causa monogènica en una minoria de casos, sent els gens amb més freqüència descrits: *PIK3CD* (gen que codifica la subunitat catalítica p110δ de la 1-fostatidilinositol-3-cinasa) (26,74%), *LRBA* (gen que codifica la proteïna d'anclatge/fixació *beige-like* de resposta a lipopolisacàrids) (26,74%), *CTLA4* (gen que codifica una glicoproteïna de membrana dels limfòcits T, l'antigen 4 del limfòcit T citotòxic (CD152 o CTL.4 o CTLA.4)) (6,42%), *NFKB2* (gen que codifica el factor nuclear potenciador de les cadenes lleugeres kappa de les cèl·lules B activades 2) (5,35%) i *PIK3R1* (gen que codifica la subunitat reguladora p85α de la 1-fostatidilinositol-3-cinasa) (4,81%) (45), mantenint-

se encara el gen *NFKB2* com a possible IDCV, però estant clar que la resta ja s'han de reclassificar de manera independent.

En la nostra sèrie de pacients mitjançant seqüenciació de l'exoma complet i filtrant per 83 gens candidats hem pogut identificar 3 pacients amb mutacions en tres d'aquests gens (*LRBA*, *CTLA4* i *PIK3R1*), sent en els dos primers pacients mutacions que és la primera vegada que es descriuen. Un quart pacient presenta una variant al gen *TNFRSF13B* (membre de la superfamília de receptors del factor de necrosi tumoral B13) en homozigosi, aquest gen que codifica per TACI (activador transmembrana que interactua amb CAML (liligand de ciclofilina modulador de calci)) s'ha descrit com gen modificador però no suficient per causar malaltia, excepte en els casos de variants bial·lèliques per *TNFRSF13B* on tots els pacients descrits presenten algun grau de deficiència d'anticossos, excepte un pacient homozigot per la variant C104R sense clínica i amb nivells d'immunoglobulines normals en el moment de la publicació (45).

En un 12,5% (3/24) dels pacients del nostre estudi hem arribat al diagnòstic de certesa, diferent a IDCV, gràcies a l'estudi genètic i en un 17% (4/24) a confirmació diagnòstica. Si només agafen els 22 pacients que compleixen els criteris de l'estudi de Maffucci assolim un 18 % (4/22) de diagnòstic, molt més elevat que el publicat fins ara de causes monogèniques d'IDCV (2-10%), tot i que lluny del 30% de la sèrie citada. Probablement la causa d'aquesta diferència (18% respecte 30%) rau en una petita proporció en el fet que l'estudi filtra pels 269 gens coneguts d'immunodeficiències primàries i nosaltres hem seleccionat els 83 gens que tenien més probabilitats de ser identificats, i bàsicament perquè hi ha dos pacients on s'han detectat variants no reportades com a causants de malaltia fins el moment (als gens *STAT1* i *NFKB1*). S'estan realitzant els corresponents estudis genètics i funcionals en aquests dos pacients i els seus familiars per poder confirmar els diagnòstics, en el cas de confirmació, faria desaparèixer la diferència amb l'estudi citat.

Tot i així, segueix quedant una major part dels pacients amb diagnòstic d'IDCV on no es pot identificar la causa de la seva immunodeficiència. Per arribar a trobar els mecanismes que condueixen a la clínica d'aquest pacients s'estan utilitzant altres tècniques de seqüenciació massiva paral·lela, com la combinació dels gens d'interès amb l'anàlisi basat



en les vies, per identificar les vies desregulades en la IDCV (108). Amb la hipòtesi que diferents variants o combinacions de variants en la mateixa via poden conduir a un fenotip semblant es realitza seqüenciació del genoma complet (WGS) en pacients amb IDCV i s'identifiquen 100 vies més enriquides en gens amb variants predites com deletèries per a la funció de la proteïna. Es realitza la seqüenciació del RNA de les cèl·lules B en pacients comparant amb individus sans i s'identifiquen 52 vies enriquides per la diferent expressió de gens (variants no codificants amb evidència d'alteració en l'expressió del gen), la combinació d'aquestes vies amb les identificades per WGS mostren 24 vies de major interès, entre elles la via de senyalització ICOS-ICOSL, regulació de l'apoptosi, senyalització de citocines i diferenciació o senyalització de les cèl·lules T col·laboradores, avalant l'etiologia poligènica de la IDCV (108).

Altres estudis han identificats canvis epigenètics implicats en l'etiologia de la IDCV com és en el cas dels bessons monozygòtics. La comparació dels patrons de metilació del DNA cel·lular mostra llocs amb diferent de metilació entre els bessons amb major percentatge de metilació en el malalt respecte el sa en gens associats als limfòcits B. En estudiar pacients amb IDCV respecte sans es constata una alteració en la pèrdua de metilació (en la diferenciació de les cèl·lules B es produeix una disminució de la metilació i un guany d'expressió) en els gens implicats en la diferenciació de cèl·lules B naïf a cèl·lules B memòria commutades (109).

Els criteris diagnòstics de la IDCV no han variat massa des de la seva definició el 1999 (1), tot i que diferents definicions han intentat excloure els pacients amb defecte cel·lular T greu i els pacients que no associen deficiència d'IgA (107)(36), no tots els consensos hi estan d'acord (17) i els criteris segueixen sent prou amplis per englobar pacients molt diversos i probablement molts no es corresponen a IDCV.

Inicialment, es considerava que la clínica s'havia d'iniciar a partir dels 2 anys, posteriorment la majoria de consensos aconsellen no establir el diagnòstic d'IDCV abans dels 4 anys tot i que la clínica pot iniciar-se a qualsevol edat (17)(36). Creiem que aquesta edat tot i que permet descartar la majoria dels pacients amb immunodeficiència transitòria de la infància (la majoria normalitzen valors d'immunoglobulines abans dels 4 anys d'edat) no permet identificar pacients que normalitzaran nivells d'immunoglobulines

i resposta vacunal més endavant com es el cas d'un dels nostres pacients. Tot i que està descrit el defecte en la resposta vacunal en una petita part dels pacients (110), cosa que els podria fer confondre amb IDCV, està descrita la normalització d'immunoglobulina G i subclases en la primera dècada de la vida (111). El nostre pacient va ser diagnosticat als 6 anys d'edat, revaluat periòdicament i seguint complint criteris fins als 14 anys, no és fins els 15 anys d'edat que presenta correcta resposta vacunal i als 18 anys que normalitza nivells d'immunoglobulines. Tot i que en l'actualitat no es pot considerar que tingui una IDCV, en l'estudi als 17 anys es mostra una limfopènia a expenses de limfòcits T i en les subpoblacions B presenta un augment en el percentatge de cèl·lules B naïf i disminució en el de cèl·lules B memòria, memòria commutades i marginals, perfil propi d'un defecte de maduració de les cèl·lules B, sent d'interès el seguiment d'aquest pacient en la vida adulta.

El diagnòstic d'IDCV en els pacients en edat pediàtrica, tot i complir tots els criteris, hauria de revisar-se de forma periòdica almenys fins a l'edat adulta o poder-se establir un diagnòstic de certesa (principalment genètic).

Estem encara lluny de diagnosticar correctament els pacients amb IDCV; més ben dit, estem lluny d'estar segurs que quan establim aquest diagnòstic sigui realment un diagnòstic de certesa i això sobretot en els pacients pediàtrics. Es fa necessària la revaluació periòdica per confirmar el diagnòstic en els pacients pediàtrics. Endemés en els pacients pediàtrics l'inici precoç de la malaltia ha de fer pensar en la possibilitat d'un defecte immunològic més important que quan el debut és en l'edat adulta i s'han de descartar defectes cel·lulars greus associats que ens suggereixen buscar diagnòstics alternatius. És recomanables fer estudi genètic en els pacients pediàtrics donat que és el grup on més probablement trobarem les formes monogèniques descrites associades al fenotip d'IDCV.

Els pacients que presenten autoimmunitat o inflamació, història familiar o consanguinitat també tenen major probabilitat d'assolir aquest diagnòstic genètic. Una vegada analitzat el fenotip clínic i immunològic del pacient, si creiem que hi ha un o pocs gens candidats podem optar per l'anàlisi d'expressió de la proteïna (si és possible) o la seqüenciació del

gen o gens, però en cas de diversos gens candidats seria millor opció fer seqüenciació de l'exoma complet i cribrar per als gens coneguts associats a fenotip d'IDCV.

### **Repercussions del diagnòstic genètic en els nostres pacients**

La identificació de variants causants de malaltia en un pacient comporta tenir un diagnòstic definitiu i permetre el consell genètic, ambdues coses prou importants. En el cas dels pacients diagnosticats d'IDCV el diagnòstic genètic ens permet en alguns casos, com són els dels nostres pacients, plantejar tractaments alternatius als que s'estaven realitzant orientats a la patogènia de la seva malaltia. El coneixement del defecte molecular també ens podria permetre identificar familiars afectes asimptomàtics; en el nostre cas s'han estudiat pares i germans dels pacients i tan en el cas del pacient amb mutació a *CTLA4* com a *PIK3R1* no hi ha familiars afectes i en el cas de la pacient amb la mutació al gen *LRBA* tan els pares com els tres germans són portadors en heterozigosi.

- El 2012 es començaren a publicar pacients amb mutacions al gen *LRBA* identificats per seqüenciació de l'exoma (112) o per anàlisi de lligament genètic (113) que presentaven en comú antecedents de consanguinitat, inici precoç dels símptomes, autoimmunitat, enteropatia i hipogammaglobulinèmia. Les darreres publicacions de sèries de pacients (114)(115) coincideixen en presentar la desregulació immunitària, l'organomegàlia, les infeccions recurrents i la hipogammaglobulinèmia com les complicacions més freqüents de la deficiència de LRBA. També un dels estudis mostra un retard de creixement en el 42 % dels pacients. Des del punt de vista de laboratori, la majoria presenten valors normals de limfòcits T però  $\frac{3}{4}$  parts presenten disminució de les cèl·lules T reguladores, i disminució a expenses de limfòcits B de memòria i plasmablastes en la majoria dels pacients però amb recompte de limfòcits B totals normals en més de la meitat dels pacients. La nostra pacient amb deficiència de LRBA presentava totes aquestes característiques clíniques (enteritis d'inici precoç, organomegàlia, infeccions de repetició, retard de creixement) i immunològiques (hipogammaglobulinèmia, disminució de les cèl·lules T reguladores, cèl·lules B, B memòria, memòria commutades i plasmablastes), endemés de presentar un limfoma MALT pulmonar. Amb un diagnòstic més precoç s'haurien pogut intentar tractaments com l'abatacept o el sirolimús o fins i tot plantejar el

trasplantament de cèl·lules hematopoètiques donada la gravetat en l'evolució clínica de la pacient.

- Tot i que la deficiència de CTLA.4 es va descriure inicialment en pacients amb diagnòstic d'IDCV i publicats per dos grups independents el 2014 (45), en l'actualitat es considera una immunodeficiència per desregulació immunitària. L'haploinsuficiència de CTLA.4 amb infiltració autoimmunitària (CHAI) i la deficiència de LRBA amb autoanticossos, defecte de cèl·lules T reguladores, infiltració autoimmunitària i enteropatia (LATAIE) estan causades per mutacions (la primera en heterozigosi i la segona bial·lèlica) amb pèrdua de funció que comporten deficient expressió de CTLA.4 a la superfície cel·lular o en la seva funció (116). Els pacients presenten citopènies autoimmunitàries, limfadenopatia/esplenomegàlia, hipogammaglobulinèmia, malalties autoimmunitàries organoespecífiques i infiltració limfocítica d'òrgans no limfoides sobretot a intestí, pulmó i cervell. Els pacients amb LATIAE inicien la clínica de forma més precoç (edat preescolar), presenten major freqüència de malaltia pulmonar intersticial i una penetrància quasi complerta respecte la penetrància incompleta en el CHAI (40%), però amb una gravetat clínica molt variable.

El CTLA.4 és un receptor inhibidor de les cèl·lules T, es troba en la superfície cel·lular per interaccionar amb el CD80 o CD86 de les cèl·lules presentadores d'antígens competint amb el CD28 (principal molècula coestimuladora del limfòcit T) per aquesta unió. El CTLA.4 s'expressa a la superfície de les cèl·lules T estimulades i a la de les cèl·lules T reguladores. El CTLA.4 s'emmagatzema als endosomes de reciclatge que de forma cíclica van a la superfície cel·lular quan es produeix l'activació de la cèl·lula T. La LRBA regula el recanvi de CTLA.4 als endosomes, ajudant a mantenir un grup de vesícules intracel·lulars de CTLA.4 per a la seva mobilització immediata a la superfície quan és necessària. La manca de LRBA comporta la degradació de les vesícules pels lisosomes. La hipogammaglobulinèmia sembla causada per un increment en les cèl·lules B CD21<sup>low</sup> que es caracteritzen per un estat funcional de no resposta conseqüència de l'activació persistent. Es planteja que fàrmacs que tinguin com a diana la via CD28/CTLA.4 o les cèl·lules T reguladores serien efectius per les dues malalties, així s'han utilitzat l'abatacept i el sirolimús i es planteja l'ús de cloroquina pel seu efecte d'inhibidor lisosomal que

augmentaria els nivells de CTLA.4. En els casos més greus s'ha realitzat transplantament de cèl·lules hematopoètiques amb èxit en alguns casos. El nostre pacient amb deficiència de CTLA.4 presentava la clínica descrita amb citopènia autoimmunitària (síndrome d'Evans), infeccions persistents, hipogammaglobulinèmia, esplenomegàlia, limfadenopaties i afectació pulmonar intersticial. Assolir el diagnòstic de certesa en aquest pacient ha permès el tractament amb sirolimús amb milloria de la clínica i el millor seguiment del pacient en conèixer les possibles complicacions associades a la malaltia, així com el consell genètic al pacient i família.

- La primera descripció de la mutació heterozigota a *PIK3CD* (que codifica la subunitat catalítica p110δ de PIK3) va ser el 2006 en un pacient diagnosticat d'IDCV (45), i a partir del 2013 s'han descrit més de 50 casos. Es tracta d'una mutació de guany de funció trobada en pacients prèviament diagnosticats d'IDCV, síndrome d'hiperIgM o immunodeficiència combinada anomenant-la síndrome de PI3Kδ activat (APDS). Va ser el 2014 que es van publicar pacients amb un fenotip APDS-like per mutacions en heterozigosi de pèrdua de funció en el gen *PIK3R1* (que codifica la subunitat reguladora p85α de PIK3), la pèrdua de la inhibició de p110δ depenent de p85α causa hiperactivitat en la via de PIK3 explicant el fenotip. També en aquest cas el nostre pacient amb la mutació a *PIK3R1* presenta les característiques pròpies de l'APDS-like amb infeccions de repetició, limfadenopaties persistents, infecció per VEB/CMV i limfoma, amb nivells normals d'IgG i deficiència de subclasses i d'IgA i IgM elevada en algunes determinacions. El diagnòstic d'aquest pacient ha condicionat un canvi de tractament, quan la recidiva del limfoma feia plantejar el seu tractament es va decidir iniciar sirolimús amb milloria clínica. No ha necessitat tractament del limfoma, ha disminuït el nombre d'infeccions i s'ha pogut augmentar l'interval entre de dosis del tractament substitutiu amb gammaglobulines. Tanmateix ha permès el consell genètic.

- Des del 2005 s'han succeït publicacions que relacionaven les variants de TACI, tant en heterozigosi com en homozigosi, amb la IDCV, tot i que la presència d'aquestes variants en individus sans fa pensar en una penetrància incompleta (117). Els polimorfismes a TACI es troben en un 5-8% dels pacients amb IDCV i poden estar presents en individus sans en aproximadament l'1 % (17). Les mutacions en heterozigosi a TACI han mostrat una

associació significativa en augmentar el risc de desenvolupar malaltia autoimmunitària i hiperplàsia limfoide en pacients amb IDCV (79). Així, els pacients amb polimorfismes bial·lèlics desenvolupen IDCV i els pacients amb IDCV i variants en heterozigosi presenten major risc de desenvolupar fenòmens autoimmunitaris (17). Els pacients amb variants bial·lèliques semblen protegits de presentar malaltia autoimmunitària (45). El nostre pacient amb mutació en homozigosi a TACI presenta clínica exclusivament infecciosa i es manté sense infeccions amb tractament substitutiu amb gammaglobulines. La bona evolució clínica i la manca de complicacions fa pensar que aquesta és la causa de la seva immunodeficiència, ja que les mutacions a TACI estan descrites com a predisposant a IDCV i en cas d'homozigosi tots els pacients presenten algun grau de deficiència d'anticossos (45). De tota manera aquests pacients poden presentar complicacions i per tant s'ha de mantenir el seguiment.

En els quatre pacients diagnosticats mitjançant l'estudi genètic, el diagnòstic ha comportat un canvi en el tractament, el seguiment i/o el pronòstic, endemés de permetre el consell genètic al pacient i familiars, mostrant la importància de realitzar estudi genètic en els pacients pediàtrics amb diagnòstic d'IDCV.

### **Discussió global**

En resum les nostres dades i les que es poden trobar en la bibliografia confirmen que la IDCV és encara un grup de immunodeficiències primàries varies que necessita de major estudi i que possiblement acabarà concretant-se en un conjunt ampli de patologies que convergeixen en el defecte evident de la producció d'anticossos. Aquest coneixement que ha d'arribar esperem que permeti donar un millor enfocament als nostres pacients.



## Conclusions





## 6. Conclusions

---

### 6.1 Conclusions a l'Objectiu específic 1

Descriure de manera estructurada els pacients en quant a filiació i característiques a l'inici i en el moment del diagnòstic de la IDCV.

- 1) La mediana d'edat al primer símptoma és de 4 anys i al diagnòstic de 9 anys amb un retard diagnòstic de 5 anys. La majoria dels pacients són de sexe masculí, raça caucàsica i no consanguinis. No s'identifiquen diferències significatives entre grups.
- 2) Quasi la meitat dels pacients presenten disminució dels nivells dels 3 isotips d'immunoglobulines al diagnòstic,  $\frac{3}{4}$  parts isoaglutinines negatives i quasi tots resposta vacunal negativa.
- 3) El 30 % dels pacients amb IDCV (**Grup 3**) tenen antecedents familiars de malaltia autoimmunitària, d'al·lèrgia i/o d'immunodeficiència primària.

### 6.2 Conclusions a l'Objectiu específic 2

Determinar les característiques clíniques dels pacients pediàtrics diagnosticats d'IDCV.

- 1) En la classificació en 4 fenotips clínics del 2012, els pacients del fenotip no complicat pertanyen al **Grup 1** i al **Grup 3**, mentre que els pacients del **Grup 2** desenvolupen més fenotips clínics (a expenses de limfoproliferació policlonal-hiperplàsia limfoide, malignitat i/o retard del creixement) que el **Grup 3**.
- 2) Tots els pacients del **Grup 2** han presentant infeccions clíniques per CMV i/o VEB, infeccions significatives i necessitat d'antibiòtic iv.
- 3) Més de la meitat dels pacients del **Grup 3** presenten malaltia autoimmunitària (1/3 n'agrupen 2 o més).
- 4) En els pacients amb clínica suggestiva d'al·lèrgia s'ha confirmat el diagnòstic.

- 5) En els pacients amb limfoma no s'identifica cap fenotip clínic ni immunològic associat al risc de neoplàsia. En la meitat dels pacients s'ha redefinit una immunodeficiència diferent a la IDCV.

### **6.3 Conclusiones a l'Objectiu específic 3**

Analitzar la informació de les proves de laboratori i de les proves complementàries.

- 1) Les proves de laboratori i altres proves complementàries permeten redefinir patrons predictius i diagnòstics.
- 2) En el **Grup 2** es troba major proporció de patró espiromètric i imatge toràcica alterada i esplenomegàlia.

### **6.4 Conclusiones a l'Objectiu específic 4**

Comparació global dels paràmetres obtinguts dels pacients amb IDCV (sexe, edat d'inici, classificació pediàtrica de Yong i de Piatosa i classificació EUROclass).

- 1) Les pacients de sexe femení tenen més malalties autoimmunitàries, TC toràcica alterada, pitjor pronòstic i fenotips més complicats que els de sexe masculí. La meitat dels pacients inicien la simptomatologia abans dels 5 anys i el 80 % abans dels 10 anys.
- 2) Les classificacions de Yong, Piatosa i EUROclass són parcialment útils per a subclassificació dels pacients però no ens ajuden a diferenciar pacients en relació a fenotips, manifestacions clíniques ni pronòstic.

### **6.5 Conclusiones a l'Objectiu específic 5**

Revaluar les opcions de base genètica de cada pacient.

- 1) Segons les nostres dades fins al 20% dels pacients diagnosticats d'IDCV a l'edat pediàtrica poden diagnosticar-se de manera més precisa amb els estudis genètics disponibles en l'actualitat.

- 2) S'ha establert un diagnòstic definitiu i diferent a IDCV en el 12.5 % dels pacients (mutacions a: *LRBA*, *PIK3R1* i *CTLA4*), i s'ha identificat un pacient amb mutació a *TNFRSF13B* en homozigosi. Dos pacients presenten variants no reportades com causants de malaltia pendents de confirmació diagnòstica.
- 3) El diagnòstic genètic ha representat un canvi important en el seguiment i el tractament dels pacients amb diagnòstic de certesa diferent a IDCV. L'estudi genètic es fa necessari en els pacients pediàtrics diagnosticats d'IDCV, sent com és en l'actualitat un diagnòstic d'exclusió.



## **Bibliografia**



## 7. Bibliografia

---

1. Conley ME, Notarangelo LD, Etzioni A. Diagnostic criteria for primary immunodeficiencies. Representing PAGID (Pan-American Group for Immunodeficiency) and ESID (European Society for Immunodeficiencies). Clin Immunol. 1999;93(3):190–7.
2. ESID Registry - Working definitions for clinical diagnosis of PID. 2014. p. 1–28. Available from: <https://esid.org/Working-Parties/Registry/Diagnosis-criteria>.
3. Bruton OC. Agammaglobulinemia. Pediatrics. 1952;9(6):722–8.
4. Olhagen B. Recidiverande luftvägsinfektioner och agammaglobulinemi— ett nytt syndrom. Nord Med. 1953;50:1688–1689.
5. Cooper MD, Faulk WP, Fudenberg HH, Good RA, Hitzig W, Kunkel H, et al. Classification of Primary Immunodeficiencies. N Engl J Med. 1973;288(18):966–7.
6. Picard C, Al-Herz W, Bousfiha A, Casanova JL, Chatila T, Conley ME, et al. Primary Immunodeficiency Diseases: an Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency 2015. J Clin Immunol. 2015;35(8):696–726.
7. Chapel H, Lucas M, Lee M, Bjorkander J, Webster D, Grimbacher B, et al. Common variable immunodeficiency disorders: division into distinct clinical phenotypes. Blood. 2008;112(2):277–86.
8. Cunningham-Rundles C. How I treat common variable immune deficiency. Blood. 2010;116(1):7–15.
9. Westh L, Mogensen TH, Dalgaard LS, Bernth Jensen JM, Katzenstein T, Hansen A-BE, et al. Identification and characterization of a nationwide Danish adult common variable immunodeficiency cohort. Scand J Immunol. 2017;450–61.
10. Cunningham-Rundles C, Bodian C. Common variable immunodeficiency: clinical and immunological features of 248 patients. Clinical immunology. 1999;92:34–48.



11. Gathmann B, Mahlaoui N, Gérard L, Oksenhendler E, Warnatz K, Schulze I, et al. Clinical picture and treatment of 2212 patients with common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;134(1):116–126.e11.
12. Quinti I, Soresina A, Spadaro G, Martino S, Donnanno S, Agostini C, et al. Long-term follow-up and outcome of a large cohort of patients with common variable immunodeficiency. *J Clin Immunol*. 2007;27(3):308–16.
13. Mohammadinejad P, Aghamohammadi A, Abolhassani H, Sadaghiani MS, Abdollahzade S, Sadeghi B, et al. Pediatric patients with common variable immunodeficiency: long-term follow-up. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2012;22(3):208–214.
14. Burrows PD, Cooper MD. IgA deficiency. *Adv Immunol*. 1997;65:245–76.
15. Vorechovský I, Cullen M, Carrington M, Hammarström L, Webster AD. Fine mapping of IGAD1 in IgA deficiency and common variable immunodeficiency: identification and characterization of haplotypes shared by affected members of 101 multiple-case families. *J Immunol*. 2000;164(8):4408–16.
16. Yong PF, Thaventhiran JE, Grimbacher B. “A rose is a rose is a rose,” but CVID is Not CVID common variable immune deficiency (CVID), what do we know in 2011? *Adv Immunol*. 2011;111:47–107.
17. Bonilla FA, Barlan I, Chapel H, Costa-Carvalho BT, Cunningham-Rundles C, de la Morena MT, et al. ICON: Common Variable Immunodeficiency Disorders. *J allergy Clin Immunol Pract*. 2015;4(1):38–59.
18. Resnick ES, Moshier EL, Godbold JH, Cunningham-Rundles C. Morbidity and mortality in common variable immune deficiency over 4 decades. *Blood*. 2012;119(7):1650–7.
19. Unger S, Seidl M, Schmitt-Graeff A, Böhm J, Schrenk K, Wehr C, et al. Ill-defined germinal centers and severely reduced plasma cells are histological hallmarks of

lymphadenopathy in patients with common variable immunodeficiency. *J Clin Immunol*. 2014;34(6):615–26.

20. Agondi RC, Barros MT, Rizzo L V, Kalil J, Giavina-Bianchi P. Allergic asthma in patients with common variable immunodeficiency. *Allergy*. 2010;65(4):510–5.

21. Agondi RC, Barros MT, Kokron CM, Cohon A, Oliveira AKB, Kalil J, et al. Can patients with common variable immunodeficiency have allergic rhinitis? *Am J Rhinol Allergy*. 2013;27(2):79–83.

22. Urschel S, Kayikci L, Wintergerst U, Notheis G, Jansson A, Belohradsky BH. Common Variable Immunodeficiency Disorders in Children: Delayed Diagnosis Despite Typical Clinical Presentation. *J Pediatr*. 2009;154(6):888–94.

23. Ogershok PR, Hogan MB, Welch JE, Corder WT, Wilson NW. Spectrum of illness in pediatric common variable immunodeficiency. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2006;97(5):653–6.

24. Ward C, Lucas M, Piris J, Collier J, Chapel H. Abnormal liver function in common variable immunodeficiency disorders due to nodular regenerative hyperplasia. *Clin Exp Immunol*. 2008;153:331–7.

25. Salzer U, Warnatz K, Peter HH. Common variable immunodeficiency: an update. *Arthritis Res Ther*. 2012;14(5):223.

26. Gompels MM, Hodges E, Lock RJ, Angus B, White H, Larkin A, et al. Lymphoproliferative disease in antibody deficiency: a multi-centre study. *Clin Exp Immunol*. 2003;134(2):314–20.

27. Chua I, Quinti I, Grimbacher B. Lymphoma in common variable immunodeficiency: interplay between immune dysregulation, infection and genetics. *Curr Opin Hematol*. 2008;15(4):368–74.

28. Buckley RH. Inmunología. In: Kliegman, Stanton, Geme S, Schor, Behrman, editors. *Nelson Tratado de Pediatría*. 19<sup>a</sup> ED. S.A. Elsevier España; 2012.

29. Warnatz K, Schlesier M. Flowcytometric phenotyping of common variable immunodeficiency. *Cytometry Part B (Clin Cytom)*. 2008;74B:261–71.
30. Pieper K, Grimbacher B, Eibel H. B-cell biology and development. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;131(4):959–71.
31. Ahn S, Cunningham-Rundles C. Clinical manifestations, epidemiology, and diagnosis of common variable immunodeficiency in adults. *UpToDate*®. 2015. p. 1–17. Available from: [www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)
32. Yong PL, Orange JS, Sullivan KE. Pediatric common variable immunodeficiency: immunologic and phenotypic associations with switched memory B cells. *Pediatr Allergy Immunol*. 2010;21(5):852–8.
33. van de Ven AA, van Montfrans JM. Clinical complications in pediatric CVID are not restricted to patients with severely reduced class-switched memory B cells. *Pediatr Allergy Immunol*. 2011;22(3):347–8.
34. Yu JE, Knight AK, Radigan L, Marron TU, Zhang L, Sanchez-Ramon S, et al. Toll-like receptor 7 and 9 defects in common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol*. 2009;124(2):349–56, 356-3.
35. Cunningham-Rundles C, Radigan L, Adina K, Knight AK, Zhang L, Bauer L, Nakazawa A. TLR9 Activation Is Defective in Common Variable Immune Deficiency. *J Immunol*. 2006;176:1978–87.
36. Bertinchamp R, Gérard L, Boutboul D, Malphettes M, Fieschi C, Oksenhendler E, et al. Exclusion of Patients with a Severe T-Cell Defect Improves the Definition of Common Variable Immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2016;4(6):1147–57.
37. Hogan MB, Wilson NW. Common variable immunodeficiency in children. *UpToDate*®. 2015. p. 1–14. Available from: [www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)
38. Ahn S, Cunningham-Rundles C. Pathogenesis of common variable immunodeficiency. *UpToDate*®. 2015. p. 1–9. Available from: [www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)

39. Wehr C, Kivioja T, Schmitt C, Ferry B, Witte T, Eren E, et al. The EUROclass trial: defining subgroups in common variable immunodeficiency. *Blood*. 2008;111(1):77–85.
40. Chapel H, Lucas M, Patel S, Lee M, Cunningham-Rundles C, Resnick E, et al. Confirmation and improvement of criteria for clinical phenotyping in common variable immunodeficiency disorders in replicate cohorts. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;130(5):1197–1198.e9.
41. Margulies M, Egholm M, Altman WE, Attiya S, Bader JS, Bemben LA, et al. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature*. 2005;437:376–80.
42. Metzker MLMLL. Emerging technologies in DNA sequencing. *Genome Res*. 2005;15(12):1767–76.
43. Orange JS, Glessner JT, Resnick E, Sullivan KE, Lucas M, Ferry B, et al. Genome-wide association identifies diverse causes of common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127(6):1360–7.e6.
44. Maffucci P, Filion CA, Boisson B, Itan Y, Shang L, Casanova J-L, et al. Genetic Diagnosis Using Whole Exome Sequencing in Common Variable Immunodeficiency. *Front Immunol*. 2016;7:220.
45. Bogaert DJA, Dullaers M, Lambrecht BN, Vermaelen KY, De Baere E, Haerynck F. Genes associated with common variable immunodeficiency: one diagnosis to rule them all? *J Med Genet*. 2016;53:575-590.
46. Ahn S, Cunningham-Rundles C. Treatment and prognosis of common variable immunodeficiency. UpToDate<sup>®</sup>. 2015. p. 1–12. Available from: [www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)
47. Stone JH. Overview of biologic agents in the rheumatic diseases. UpToDate<sup>®</sup>. 2016. p. 1–8. Available from: [www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)
48. Quinti I, Agostini C, Tabolli S, Brunetti G, Cinetto F, Pecoraro A, et al. Malignancies are the major cause of death in patients with adult onset common variable immunodeficiency. *Blood*. 2012;120(9):1953–4.

49. Llobet MP, Soler-Palacin P, Detkova D, Hernandez M, Caragol I, Espanol T. Common variable immunodeficiency: 20-yr experience at a single centre. *Pediatr Allergy Immunol*. 2009;20(2):113–8.
50. Piątosza B, Pac M, Siewiera K, Pietrucha B, Klaudel-Dreszler M, Heropolitańska-Pliszka E, et al. Common variable immune deficiency in children--clinical characteristics varies depending on defect in peripheral B cell maturation. *J Clin Immunol*. 2013;33(4):731–41.
51. Steven J. Soldin Kurt C., Md. Gunter Carlo, Md. Brugnara Jocelyn M. PDH. Pediatric reference ranges. Second Edi. Washington, DC: AACC Press; 1997.
52. Vlug A, Nieuwenhuys EJ, van Eijk R V, Geertzen HG, van Houte AJ. Nephelometric measurements of human IgG subclasses and their reference ranges. *Ann Biol Clin (Paris)*. 1994;52(7–8):561–7.
53. Shearer WT, Rosenblatt HM, Gelman RS, Oymopito R, Plaeger S, Stiehm ER, et al. Lymphocyte subsets in healthy children from birth through 18 years of age: The pediatric AIDS clinical trials group P1009 study. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;112(5):973–80.
54. Piatosa B, Wolska-Kusnierz B, Pac M, Siewiera K, Galkowska E, Bernatowska E. B Cell Subsets in Healthy Children : Reference Values for Evaluation of B Cell Maturation Process in Peripheral Blood. *Cytometry Part B*. 2010;78B:372–81.
55. Pozo F, Tenorio A. Detection and typing of lymphotropic herpesviruses by multiplex polymerase chain reaction. *J Virol Methods*. 1999;79:9–19.
56. Orange JS, Ballou M, Stiehm ER, Ballas ZK, Chinen J, De La Morena M, et al. Use and interpretation of diagnostic vaccination in primary immunodeficiency: a working group report of the Basic and Clinical Immunology Interest Section of the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;130(3 Suppl): S1-24.

57. Rosenberg HK, Markowitz RI, Kolberg H, Park C, Hubbard A, Bellah RD. Normal splenic size in infants and children: sonographic measurements. *AJR Am J Roentgenol*. 1991;157(1):119–21.
58. Oliva Hernández C, Gómez Pastrana D, Sirvent Gómez J, Asensio de la Cruz O. Estudio de la función pulmonar en el paciente colaborador. Parte I. *An Pediatr*. 2007;66(4):393–406.
59. Riordan FA, Davidson DC. Revised criteria for diagnosis of coeliac disease and medical audit. *Arch Dis Child*. 1991;66(4):561.
60. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, et al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition Guidelines for the Diagnosis of Coeliac Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012;54(1):136–60.
61. Dickson BC, Streutker CJ, Chetty R. Coeliac disease: an update for pathologists. *J Clin Pathol*. 2006;59(10):1008–16.
62. Craig ME, Jefferies C, Dabelea D, Balde N, Seth A, Donaghue KC. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2014. Definition, epidemiology, and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes*. 2014;15 Suppl 2:4–17.
63. Mayayo Dehesa E. Hipotiroidismo y bocio. 2011. p. 150–65. Available from: [http://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/13\\_hipotiroidismo\\_y\\_bocio.pdf](http://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/13_hipotiroidismo_y_bocio.pdf).
64. Direcció General de Recursos Sanitaris. Departament de Salut. Criteris d'indicació i seguiment del tractament amb hormona de creixement i substàncies relacionades. 2010. p. 1–17. Available from: [http://canalsalut.gencat.cat/web/.content/home\\_canal\\_salut/professionals/participacio/grups\\_de\\_treball/consells\\_assessors\\_sobre\\_lus\\_racional\\_dels\\_medicaments/consell\\_asessor\\_sobre\\_utilitzacio\\_lhormona\\_creixement\\_i\\_substancies/documents/arxiu/instruc1-201](http://canalsalut.gencat.cat/web/.content/home_canal_salut/professionals/participacio/grups_de_treball/consells_assessors_sobre_lus_racional_dels_medicaments/consell_asessor_sobre_utilitzacio_lhormona_creixement_i_substancies/documents/arxiu/instruc1-201)
65. Teachey DT, Lambert MP. Diagnosis and management of autoimmune cytopenias in childhood. *Pediatr Clin North Am*. 2013;60(6):1489–511.

66. Petty RE, Southwood TR, Manners P, Baum J, Glass DN, Goldenberg J, et al. International League of Associations for Rheumatology classification of juvenile idiopathic arthritis: second revision, Edmonton, 2001. *J Rheumatol*. 2004;31(2):390–2.
67. WHO. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues - NLM Catalog - NCBI. 2008. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog>.
68. Fernández-Delgado Cerdá R, Mares Diago FJ. Linfomas no-Hodgkin. In: Madero López L, Lassaletta Atienza A, Sevilla Navarro J, editors. *Hematología Y Oncología Pediátricas*. 3ª Edición. Ergon; 2015. p. 533–42.
69. Castillo Laita JA, De Benito Fernández J, Escribano Montaner A, Fernández Benítez M, García de la Rubia S, Garde Garde J, et al. Consenso sobre tratamiento del asma en pediatría. *An Pediatr*. 2007;67(3):253–73.
70. Sorensen RU. Infections That Suggest an Immunodeficiency. LSU Health Sciences Center. 2004. Available from: [www.medschool.lsuhsu.edu/.../26\\_00\\_InfectsImmunodef.pdf](http://www.medschool.lsuhsu.edu/.../26_00_InfectsImmunodef.pdf).
71. Ricardo U Sorensen M, Kenneth Paris, MD M. Assessing the immunologic response to vaccination. UpToDate®. 2017. p. 1–22. Available from: [www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)
72. Mouillot G, Carmagnat M, Gerard L, Garnier JL, Fieschi C, Vince N, et al. B-cell and T-cell phenotypes in CVID patients correlate with the clinical phenotype of the disease. *J Clin Immunol*. 2010 Sep;30(5):746–55.
73. Oksenhendler E, Gerard L, Fieschi C, Malphettes M, Mouillot G, Jaussaud R, et al. Infections in 252 patients with common variable immunodeficiency. *Clin Infect Dis*. 2008;46(10):1547–54.
74. Robinson M, Smart J, Tang M. Common variable immune deficiency disorders: A paediatric experience. *Curr Trends Immunol*. 2008;9:85–91.
75. van de Ven AA, van de Corput L, van Tilburg CM, Tesselaar K, van Gent R, Sanders EA, et al. Lymphocyte characteristics in children with common variable immunodeficiency. *Clin Immunol*. 2010;135(1):63–71.

76. Raeiszadeh M, Kopycinski J, Paston SJ, Diss T, Lowdell M, Hardy GAD, et al. The T cell response to persistent herpes virus infections in common variable immunodeficiency. *Clin Exp Immunol*. 2006;146(2):234–42.
77. Chapel H, Cunningham-Rundles C. Update in understanding common variable immunodeficiency disorders (CVIDs) and the management of patients with these conditions. *Br J Haematol*. 2009;145(6):709–27.
78. Abolhassani H, Amirkashani D, Parvaneh N, Mohammadinejad P, Gharib B, Shahinpour S, et al. Autoimmune phenotype in patients with common variable immunodeficiency. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2013;23(5):323–9.
79. Agarwal S, Cunningham-Rundles C. Autoimmunity in common variable immunodeficiency. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2009;9(5):347–52.
80. Arays R, Goyal S, Jordan KM. Common variable immunodeficiency, immune thrombocytopenia, rituximab and splenectomy: important considerations. *Postgrad Med*. 2016;128(6):567–72.
81. Bateman EA, Ayers L, Sadler R, Lucas M, Roberts C, Woods A, et al. T cell phenotypes in patients with common variable immunodeficiency disorders: associations with clinical phenotypes in comparison with other groups with recurrent infections. *Clin Exp Immunol*. 2012;170(2):202–11.
82. Patuzzo G, Barbieri A, Tinazzi E, Veneri D, Argentino G, Moretta F, et al. Autoimmunity and infection in common variable immunodeficiency (CVID). *Autoimmun Rev*. 2016;15(9):877–82.
83. Kofod-Olsen E, Jørgensen SE, Nissen SK, Westh L, Møller BK, Østergaard L, et al. Altered fraction of regulatory B and T cells is correlated with autoimmune phenomena and splenomegaly in patients with CVID. *Clin Immunol*. 2016;162:49–57.
84. Malphettes M, Gerard L, Carmagnat M, Mouillot G, Vince N, Boutboul D, et al. Late-onset combined immune deficiency: a subset of common variable immunodeficiency with severe T cell defect. *Clin Infect Dis*. 2009 1;49(9):1329–38.



85. Touw CM, van de Ven AA, de Jong PA, Terheggen-Lagro S, Beek E, Sanders EA, et al. Detection of pulmonary complications in common variable immunodeficiency. *Pediatr Allergy Immunol.* 2010;21(5):793–805.
86. Boloursaz MR, Khalilzadeh S, Rahmati Nezhad P, Bakhshayesh Karam M, Mahdavian A, Mosadegh L, et al. Chest CT manifestations in children with CVID: A 10-year report. *Tanaffos.* 2012;11(4):56–9.
87. Serra G, Milito C, Mitrevski M, Granata G, Martini H, Pesce AM, et al. Lung MRI as a possible alternative to CT scan for patients with primary immune deficiencies and increased radiosensitivity. *Chest.* 2011;140(6):1581–9.
88. Arslan S, Poyraz N, Ucar R, Yesildag M, Yesildag A, Caliskaner AZ. Magnetic Resonance Imaging May Be a Valuable Radiation-Free Technique for Lung Pathologies in Patients with Primary Immunodeficiency. *J Clin Immunol.* 2016;36(1):66–72.
89. Cesarman E. Gammaherpesvirus and lymphoproliferative disorders in immunocompromised patients. *Cancer Lett.* 2011;305(2):163–74.
90. Wheat WH, Cool CD, Morimoto Y, Rai PR, Kirkpatrick CH, Lindenbaum BA, et al. Possible role of human herpesvirus 8 in the lymphoproliferative disorders in common variable immunodeficiency. *J Exp Med.* 2005;202(4):479–84.
91. Bronkhorst MW, Bouwman LH. Mannose-binding lectin. UpToDate<sup>®</sup>. 2016. p. 1–6. Available from: [www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)
92. Bronkhorst MW, Bouwman LH. Mannose-binding lectin deficiency. UpToDate<sup>®</sup>. 2016. p. 1–15. Available from: [www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)
93. Sallenbach S, Thiel S, Aebi C, Otth M, Bigler S, Jensenius JC, et al. Serum Concentrations Of Lectin-Pathway Components In Healthy Neonates, Children And Adults: Mannan-binding lectin (MBL), M-, L-, and H-ficolin, and MBL-associated serine protease-2 (MASP-2). *Pediatr Allergy Immunol.* 2011;22(4):424–30.

94. Aghamohammadi A, Foroughi F, Rezaei N, Dianat S, Solgi G, Amirzargar AA. Mannose-binding lectin polymorphisms in common variable immunodeficiency. *Clin Exp Med*. 2009;9(4):285–90.
95. Mullighan CG, Marshall SE, Welsh KI. Mannose binding lectin polymorphisms are associated with early age of disease onset and autoimmunity in common variable immunodeficiency. *Scand J Immunol*. 2000;51(2):111–22.
96. Litzman J, Freiburger T, Grimbacher B, Gathmann B, Salzer U, Pavlik T, et al. Mannose-binding lectin gene polymorphic variants predispose to the development of bronchopulmonary complications but have no influence on other clinical and laboratory symptoms or signs of common variable immunodeficiency. *Clin Exp Immunol*. 2008;153(3):324–30.
97. Knight AK, Radigan L, Marron T, Langa A, Zhang L, Cunningham-Rundles C. High serum levels of BAFF, APRIL, and TACI in common variable immunodeficiency. *Clin Immunol*. 2007;124(2):182–9.
98. Barbosa RR, Silva SL, Silva SP, Melo AC, Pereira-Santos MC, Barata JT, et al. Reduced BAFF-R and increased TACI expression in common variable immunodeficiency. *J Clin Immunol*. 2014;34(5):573–83.
99. Jin R, Kaneko H, Suzuki H, Arai T, Teramoto T, Fukao T, et al. Age-related changes in BAFF and APRIL profiles and upregulation of BAFF and APRIL expression in patients with primary antibody deficiency. *Int J Mol Med*. 2008;21(2):233–8.
100. Xu Z-Z, Zhao B-B, Xiong H, Wei B-W, Wang Y-F. Serum BAFF and APRIL levels in patients with autoimmune hemolytic anemia and their clinical significance. *Int J Hematol*. 2015;102(4):394–400.
101. Licciardi P V, Balloch A, Russell FM, Burton RL, Lin J, Nahm MH, et al. Pneumococcal polysaccharide vaccine at 12 months of age produces functional immune responses. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;129(3):794–800.e2.

102. Goldacker S, Draeger R, Warnatz K, Huzly D, Salzer U, Thiel J, et al. Active vaccination in patients with common variable immunodeficiency (CVID). *Clin Immunol.* 2007;124(3):294–303.
103. Aydogan M, Eifan AO, Gocmen I, Ozdemir C, Bahceciler NN, Barlan IB. Clinical and immunologic features of pediatric patients with common variable immunodeficiency and respiratory complications. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2008;18(4):260–5.
104. Simão-Gurge RM, Costa-Carvalho BT, Nobre FA, Gonzalez IGS, de Moraes-Pinto MI. Prospective evaluation of *Streptococcus pneumoniae* serum antibodies in patients with primary immunodeficiency on regular intravenous immunoglobulin treatment. *Allergol Immunopathol (Madr).* 2017;45(1):55–62.
105. Janssen WJM, Bloem AC, Vellekoop P, Driessen GJ, Boes M, van Montfrans JM. Measurement of pneumococcal polysaccharide vaccine responses for immunodeficiency diagnostics: combined IgG responses compared to serotype specific IgG responses. *J Clin Immunol.* 2014;34(1):3–6.
106. Notarangelo LD, Fischer A, Geha RS, Casanova J-L, Chapel H, Conley ME, et al. Primary immunodeficiencies: 2009 update. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;124(6):1161–78.
107. Ameratunga R, Brewerton M, Slade C, Jordan A, Gillis D, Steele R, et al. Comparison of diagnostic criteria for Common Variable Immunodeficiency Disorder. *Front Immunol.* 2014;5:1–9.
108. van Schouwenburg PA, Davenport EE, Kienzler AK, Marwah I, Wright B, Lucas M, et al. Application of whole genome and RNA sequencing to investigate the genomic landscape of common variable immunodeficiency disorders. *Clin Immunol.* 2015;160(2):301–14.
109. Rodríguez-Cortez VC, del Pino-Molina L, Rodríguez-Ubreva J, Ciudad L, Gómez-Cabrero D, Company C, et al. Monozygotic twins discordant for common variable immunodeficiency reveal impaired DNA demethylation during naïve-to-memory B-cell transition. *Nat Commun.* 2015;6:7335.

110. Moschese V, Cavaliere FM, Graziani S, Bilotta C, Milito C, Chini L, et al. Decreased IgM, IgA, and IgG response to pneumococcal vaccine in children with transient hypogammaglobulinemia of infancy. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;137(2):617–9.
111. Dalal I, Reid B, Nisbet-Brown E, Roifman CM. The outcome of patients with hypogammaglobulinemia in infancy and early childhood. *J Pediatr*. 1998;133(1):144–6.
112. Alangari A, Alsultan A, Adly N, Massaad MJ, Kiani IS, Aljebreen A, et al. LPS-responsive beige-like anchor (LRBA) gene mutation in a family with inflammatory bowel disease and combined immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;130(2):481–488.e2.
113. Lopez-Herrera G, Tampella G, Pan-Hammarström Q, Herholz P, Trujillo-Vargas CM, Phadwal K, et al. Deleterious mutations in LRBA are associated with a syndrome of immune deficiency and autoimmunity. *Am J Hum Genet*. 2012;90(6):986–1001.
114. Alkhairy OK, Abolhassani H, Rezaei N, Fang M, Andersen KK, Chavoshzadeh Z, et al. Spectrum of Phenotypes Associated with Mutations in LRBA. *J Clin Immunol*. 2016;36(1):33–45.
115. Gámez-Díaz L, August D, Stepensky P, Revel-Vilk S, Seidel MG, Noriko M, et al. The extended phenotype of LPS-responsive beige-like anchor protein (LRBA) deficiency. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;137(1):223–30.
116. Lo B, Fritz JM, Su HC, Uzel G, Jordan MB, Lenardo MJ. CHAI and LATAIE: New genetic diseases of CTLA-4 checkpoint insufficiency. *Blood*. 2016;128(8):1037–42.
117. Pan-hammarström Q, Salzer U, Du L, Björkander J, Nelson DL, Bacchelli C, et al. Reexamining the role of TACI coding variants in common variable immunodeficiency and selective IgA deficiency. *Nat Genet*. 2007;39(4):429–30.



## **Apèndix 1**



## Apèndix 1: Aspectes ètics i consentiment informat

---

Es tracta d'un estudi no experimental en pacients pediàtrics. La majoria d'estudis sol·licitats són els que es realitzen de forma habitual en el diagnòstic i seguiment de pacients amb IDCv (analítica sanguínia, funció pulmonar, ecografia abdominal, imatge pulmonar). S'han realitzat el mínim d'extraccions sanguínies necessàries i optimitzat el volum de les extraccions. Les famílies/tutors legals dels pacients i els pacients han rebut informació sobre l'estudi i els estudis genètics a realitzar i han signat el consentiment informat per als estudis genètics.

El Comitè Ètic d'Investigació Clínica de l'Hospital Sant Joan de Déu va emetre informe favorable per al projecte de tesi en data 9 de febrer de 2011. Codi CEIC PIC-74-10.

S'adjunta:

- Informe Comitè Ètic d'Investigació Clínica
- Consentiment informat per a la utilització de dades clíniques i material biològic del procés assistencial per a la investigació biomèdica de l'HSJD.
- Consentiment informat per a l'anàlisi de gens i paràmetres analítics associats a immunodeficiències primàries (IDP). Autorització per a l'ús de dades mantenint l'anonimat del pacient a una base de dades d'IDP via internet.



## INFORME DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

Don Jesús Pineda Sánchez, Secretario del Comité Ético de Investigación Clínica  
Fundació Sant Joan de Déu Esplugues de Llobregat (Barcelona)

### CERTIFICA

Que después de considerar las aclaraciones remitidas por la investigadora principal el CEIC de la Fundació Sant Joan de Déu, en su reunión del día 27 de enero de 2011 acordó emitir informe favorable el proyecto de tesis titulado **“Identificación de mutaciones de genes responsables en el desarrollo de fenotipos de inmunodeficiencia variable común (IDVC) en pacientes pediátricos. Correlación genotipo-fenotipo en la evolución clínica y tratamiento de los pacientes”**. Código CEIC PIC-74-10, cuya investigadora principal es la **Dra. Monica Piquer Gibert**.

Lo que firmo en Esplugues de Llobregat (Barcelona), a 9 de febrero de 2011

Firmado:



Don Jesús Pineda Sánchez  
Secretario CEIC Fundación SJD

Fundació  
Sant  
Joan  
de Déu



Comitè Ètic d'Investigació Clínica

**Documento de consentimiento informado para la utilización de datos clínicos y material biológico del proceso asistencial para investigación biomédica.**

En el Hospital Sant Joan de Déu de Esplugues de Llobregat (HSJD), igual que en la mayoría de hospitales, además de la labor asistencial, se realiza investigación biomédica. Esta investigación requiere recoger datos de los pacientes para analizarlos y obtener conclusiones que nos permitan progresar y puedan ser útiles para futuros pacientes.

En este sentido, las muestras obtenidas para el diagnóstico o control de las enfermedades, una vez utilizadas con esta finalidad, resultan también útiles y necesarias para la investigación. De hecho, muchos de los avances científicos obtenidos en los últimos años en medicina son fruto de este tipo de estudios.

De acuerdo con las normas de bioética y la legislación vigente, solicitamos su autorización para utilizar la información clínica y el material biológico sobrante de las pruebas que, como parte del actual proceso asistencial, se le han realizado o se le van a realizar en el HSJD.

A continuación, y de acuerdo con lo establecido por la Ley 14/2007, de Investigación Biomédica y la Ley Orgánica 15/1999, de Protección de Datos Personales, le solicitamos que lea detenidamente esta hoja de consentimiento.

**Finalidad de la Investigación: progresar en el conocimiento de la enfermedad.**

La finalidad de la investigación es mejorar nuestro conocimiento de las enfermedades. Los datos clínicos, analíticos y pruebas de imagen se utilizan para la investigación de las mismas enfermedades y el material biológico sobrante de los análisis que se le hayan realizado, para estudiar sus alteraciones moleculares (alteraciones del ADN).

Todo ello permitirá progresar en el conocimiento de la prevención, diagnóstico, pronóstico y/o tratamiento de las enfermedades.

**Muestras biológicas e información asociada: en ningún caso se le van a practicar más pruebas de las habituales ni ninguna prueba experimental.**

Se guardará y dispondrá del material biológico sobrante que se le extraiga durante el proceso asistencial (muestras de sangre, líquidos biológicos y tejidos) para realizar estudios de investigación biomédica, sin que este hecho le cause molestias adicionales a las propias del proceso asistencial.

A partir de las muestras donadas, en los casos en que la investigación lo requiera, se llevarán a cabo estudios genéticos. En estos supuestos se actuará siempre velando por la protección de esa información, omitiendo la identificación de nombres y apellidos (ver apartado de protección de datos y confidencialidad) y solicitándole un nuevo consentimiento si el Comité de Ética de la Investigación (CEI) del Hospital lo considera oportuno. En caso de ser necesaria alguna muestra adicional, el HSJD podría ponerse en contacto con usted para solicitarle nuevamente su colaboración.

Este material biológico pasará a formar parte del Biobanco (banco de muestras biológicas) del Hospital materno-infantil Sant Joan de Déu para la investigación. Este banco de muestras es un departamento reconocido por la autoridad sanitaria (Instituto de Salud Carlos III) que acoge colecciones organizadas de muestras biológicas e información asociada, en las condiciones de garantías y seguridad que exige la legislación vigente.

La investigación se realizará en las instalaciones debidamente acondicionadas del Hospital Sant Joan de Déu y de aquellas otras instituciones de investigación colaboradoras o que lo soliciten oficialmente al Biobanco del HSJD, conforme al artículo 69.2 de la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica. Cualquier estudio de investigación para el que se soliciten estos datos o muestras deberá disponer siempre preceptivamente de la aprobación del Comité de Ética de la Investigación (CEI) del HSJD-FSJD. Este Comité vela para que los investigadores desarrollen sus estudios siguiendo siempre las más estrictas normas éticas y legales.

**Protección de datos y confidencialidad: las muestras se conservarán codificadas y se utilizarán de manera anónima.**

Los datos personales que se recojan serán confidenciales y procesados de acuerdo con la Ley de Protección de Datos de Carácter Personal.

La identificación de las muestras biológicas del Biobanco del HSJD es sometida a un proceso de codificación. Al entrar una muestra se le asigna un código de identificación, que será el utilizado por los investigadores. Únicamente el personal autorizado por el Biobanco del HSJD puede relacionar su identidad con los citados códigos. Mediante este proceso los investigadores no podrán conocer ningún dato que revele su identidad. Asimismo, aunque los resultados obtenidos de la investigación realizada con sus muestras podrán ser publicados en revistas científicas, su identidad no será facilitada. De este modo, queda garantizada la confidencialidad de sus datos personales. Para todo lo previsto en este documento, se aplicará la legislación vigente sobre protección de datos de carácter personal (Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre y su desarrollo reglamentario), así como cualquier otra que resultara de aplicación.

La información clínica y de las muestras biológicas pasarán a formar parte del fichero del Biobanco del HSJD, del que es responsable el Hospital Sant Joan de Déu. La persona responsable de la custodia es el Director del Biobanco. Dichos datos serán tratados y cedidos con la única y exclusiva finalidad de llevar a cabo la investigación biomédica que usted haya autorizado. Usted podrá ejercer sus derechos de acceso, rectificación y cancelación, así como obtener información sobre el uso de sus muestras dirigiéndose a:

Director del Biobanco del Hospital MaternoInfantil Sant Joan de Déu para la Investigación  
Hospital Sant Joan de Déu  
Pg. Sant Joan de Déu, 2  
08950 Esplugues de Llobregat  
Tel. 93 253 21 00

**Carácter altruista de la donación: La cesión de muestras biológicas que usted realiza al Biobanco del HSJD es gratuita.**

Ello supone que no obtendrá ningún beneficio económico directo por su participación en los estudios de investigación. Tampoco tendrá derechos sobre posibles beneficios comerciales de los descubrimientos que puedan conseguirse como resultado de la investigación biomédica. Tenga en cuenta que todos nos beneficiamos de los resultados de la investigación facilitada por la colaboración de pacientes anteriores.

**Información sobre los resultados de la investigación: se le proporcionará información si usted desea recibirla.**

En el caso de que usted lo solicite, el Biobanco del HSJD podrá proporcionarle información acerca de en qué estudios de investigación han sido utilizadas sus muestras y de los resultados de dichas investigaciones. El Biobanco del HSJD elaborará un resumen de la información general obtenida de cada proyecto que estará disponible para quien expresamente lo solicite.

Si se obtuviera información relevante que pudiera afectar a su salud o a la de su familia, el Biobanco del HSJD habilitará los medios oportunos para contactar con usted y ofrecerle la posibilidad de conocer dicha información, así como aconsejarle la conveniencia de transmitir esta información a sus familiares en caso necesario. A efectos de un eventual contacto se utilizarán los datos que figuren en su historia clínica. No obstante, se respetará su derecho a decidir que no se le comuniquen los resultados de la investigación en los que hayan sido utilizadas sus muestras.

**Revocación del consentimiento: si usted decide firmar este consentimiento, podrá también revocarlo libremente. Ello conllevará la destrucción de sus muestras. En otro caso éstas se conservarán indefinidamente.**

Los datos y las muestras se conservarán indefinidamente hasta su extinción. Si en un futuro usted quisiera revocar su consentimiento, sus muestras biológicas serían destruidas y los datos asociados serían retirados del Biobanco del HSJD. Los efectos de esta revocación no se podrían extender a la investigación anterior que ya se hubiera llevado a cabo. Para la revocación de su consentimiento, deberá solicitarlo por escrito al Director del Biobanco del HSJD para la investigación.

Si usted no desea que sus datos clínicos y material biológico sean utilizados para la investigación biomédica, no se utilizarán ni se incluirán en los registros mencionados. Este hecho en ningún caso repercutirá negativamente en el cuidado asistencial que usted recibirá.

Por favor, pregunte al personal sanitario responsable que le ha comunicado esta información sobre cualquier duda que pueda tener, ahora o en el futuro, en relación con este consentimiento. Asimismo, puede comentar sus dudas con su médico que le pondrá en contacto con el personal sanitario autorizado.

Si ha comprendido la información que se le ha proporcionado, ha resuelto cualquier duda que pudiese tener y decide colaborar con el Biobanco del HSJD en los términos antes explicados, por favor firme a continuación el denominado **consentimiento informado en sentido afirmativo**.

Apellidos

Nombre

Núm. Ha.

Edad

Profesional que informa: ..... del servicio: .....

Persona a quien informa: ..... DNI: .....

Diagnóstico: .....

El que suscribe, una vez leída la información adjunta, en relación con el consentimiento informado para la recogida de datos clínicos, analíticos, pruebas de imagen y material biológico sobrante para investigación biomédica, y tras haberlo comentado con el profesional sanitario responsable, autoriza al Biobanco del HSJD para la investigación, a almacenar el material biológico sobrante y a utilizar científicamente el material biológico sobrante y los datos clínicos asociados en el actual proceso asistencial, con la finalidad de llevar a cabo proyectos de investigación biomédica descritos en este documento, siempre que estos proyectos cuenten con la aprobación del Comité de Ética de la Investigación de dicho Biobanco.

Autorizo que el excedente de mi material biológico utilizado para pruebas diagnósticas y los datos clínicos asociados se utilice para investigación: SI ☐

Autorizo que el excedente de mi material biológico utilizado para pruebas diagnósticas y los datos clínicos se utilice solamente en investigaciones relativas o relacionadas con:

☐ Todas las enfermedades

☐ La enfermedad .....

Deseo que se me comunique la información relevante derivada de la investigación  
SI ☐ NO ☐

Autorizo a ser contactado en el caso de necesitar más información o muestras biológicas adicionales  
SI ☐ NO ☐

Autorizo la publicación de los resultados (anónimos) de las investigaciones realizadas  
SI ☐ NO ☐

Firma del paciente (si tiene más de 12 años)

Sr. / Sra.....

DNI núm.....

Firma del tutor o representante legal

Sr. / Sra.....

DNI núm.....

Profesional del HSJD

Sr. / Sra.....

DNI núm.....

*Llegada la mayoría de edad, el donante tiene el derecho de revocación del consentimiento. En caso de que no lo ejerza, se considerará que el actual documento de consentimiento informado sigue vigente.*

Esplugues de Llobregat, a ..... de ..... de 20.....

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL ANÁLISIS DE GENES Y PARÁMETROS ANALÍTICOS ASOCIADOS A INMUNODEFICIENCIAS PRIMARIAS (IDP). AUTORIZACIÓN PARA EL USO DE LOS DATOS ANONIMIZADOS DEL PACIENTE EN UNA BASE DE DATOS DE IDP VIA INTERNET.

D. / D<sup>a</sup> ....., con DNI....., manifiesto que he sido informado por el Dr./ a ..... de la naturaleza del estudio analítico para el cual se tomarán muestras de sangre, así como de mis derechos en la privacidad de los datos obtenidos y almacenados (en particular mis derechos sobre los datos conservados en el Registro Español de Inmunodeficiencias Primarias -REDIP-).

Por tanto doy mi consentimiento para realizar (indique con una cruz la amplitud del consentimiento señalando las casillas adecuadas):

☐ Los estudios genéticos y analíticos necesarios para determinar las alteraciones causantes de inmunodeficiencias primarias.

☐ Doy mi consentimiento para que los datos confidenciales relacionados con la Inmunodeficiencia Primaria sean incluidos en el proyecto REDIP *online* y puedan ser utilizados en la forma descrita en este documento.

☐ Además, doy mi consentimiento para que los datos de interés de la Inmunodeficiencia Primaria puedan estar disponibles de manera anónima para la industria biomédica, cuando la finalidad sea la de mejorar los tratamientos.

☐ También, doy mi consentimiento para almacenar y procesar los datos relacionados con las variaciones (mutaciones) genéticas causantes de la Inmunodeficiencia Primaria en las bases de datos de mutaciones genéticas autorizadas.

Entiendo que el propósito principal de las pruebas es ayudar a mi médico en el diagnóstico de mi enfermedad / la enfermedad del menor del cual soy tutor.

Considero que la información me ha sido dada de forma comprensible y mis preguntas han sido contestadas, por lo cual he decidido voluntariamente dar la autorización para realizar la extracción de sangre propuesta.

Adicionalmente entiendo que la muestra de sangre se pueda también utilizar para la investigación en el conocimiento de estas enfermedades y que, aunque esta investigación pueda no proporcionar información útil para mí o mi familia en este momento, pueda serlo en el futuro.

Por su parte, el equipo médico se compromete a guardar el anonimato de los datos obtenidos y a informar a su médico de confianza para que le asesore sobre el significado de estos resultados.

En.....a.....de.....de 200.....

Firma del Médico responsable

Firma del paciente /  
Padre-Madre o tutor.

## Información general

El Servicio de \_\_\_\_\_ participa con el servicio de Inmunología del Hospital Clínic en el Registro Español de Inmunodeficiencias Primarias (REDIP) en su versión *online*. El REDIP es una **base de datos Española de Inmunodeficiencias Primarias vía Internet con acceso protegido con contraseña**. La base de datos del REDIP está coordinada y dirigida desde servidores seguros instalados en el Hospital Universitario Son Dureta, Palma de Mallorca, España. La forma de contactar con el coordinador se recoge al final de este documento.

### Objetivo de la iniciativa:

El objetivo de esta iniciativa es obtener, reunir y clasificar todos aquellos datos clínicos y de laboratorio de pacientes con **Inmunodeficiencias Primarias (IDPs)** que permitan mejorar su diagnóstico, clasificación, evaluación de pronóstico y tratamiento.

Los datos obtenidos en el curso del tratamiento se almacenarán durante un período indefinido en la base de datos REDIP, siendo ésta una base de seguimiento continuado y activo de los pacientes con IDPs. La información de la base de datos podrá ser consultada de forma restringida por los médicos usuarios del REDIP. Asimismo, podrá proveer de información epidemiológica y estadística a otros centros de investigación que trabajen para mejorar el diagnóstico, clasificación y tratamiento de las IDPs.

Los datos del REDIP podrán ser remitidos en las mismas condiciones de confidencialidad y de consentimiento informado al Registro Europeo de Inmunodeficiencias Primarias (*ESID registry*), que tiene las mismas funciones y objetivos que el REDIP.

Dependiendo de la amplitud del consentimiento que usted realice, un subgrupo de datos podrá estar disponible para las compañías farmacéuticas, cuando la finalidad sea mejorar los tratamientos existentes o desarrollar nuevos medicamentos.

### Se garantiza que sólo estas instituciones podrán acceder a los datos.

Bajo ninguna circunstancia los datos se pondrán a disposición de las compañías de seguros. Las publicaciones científicas basadas en estos datos serán siempre anónimas.

### Seguridad de sus datos en la Base de datos

En relación a los datos del paciente, sólo se procesarán y guardarán de forma automatizada los datos relevantes de su condición médica (año de nacimiento, datos clínicos y de laboratorio), **no** se procesarán ni almacenarán datos personales (nombres, domicilio). Los datos personales se archivarán por separado (en otro servidor, introducidos por su médico o su asistente documentalista) y **no** son procesados. Además, los datos que son procesados son codificados, es decir, que la información obtenida de la base de datos por los investigadores es **anónima** (p.ej., la identificación del paciente no es posible).

Además, si se conocen las variaciones (cambios) genéticas que originan la condición médica a estudio y usted lo autoriza, éstas se almacenarán también de forma **anónima** en las bases de datos de mutaciones genéticas autorizadas, con el fin de mejorar el conocimiento y tratamiento de las IDPs. Los datos de la mutación genética se transfieren de forma anónima a través de una conexión segura.

### Participación voluntaria

La participación en esta iniciativa investigadora es voluntaria y puede ser interrumpida en cualquier momento. Por favor, informe al médico que le atiende si usted cambia de decisión.

También, puede usted contactar directamente con la base de datos del REDIP, coordinada desde Palma de Mallorca, en la dirección referida al final de este documento. La denegación a participar en el estudio no le causará ninguna desventaja. Si desea retirarse del proyecto, sus datos no se seguirán almacenando y si lo solicita los datos existentes serán eliminados.

Direcciones de contacto:

1) REDIP (Registro Español de Inmunodeficiencias Primarias), Servicio de Inmunología, Hospital Universitario Son Dureta. Palma de Mallorca.

email: [redip@hsd.es](mailto:redip@hsd.es)

Página web: <http://web.hsd.es/redip/index.php>

2) Unidad de Inmunodeficiencias. Servei d'Immunologia. CDB - Hospital Clínic. Barcelona

email: [mjuan@clinic.ub.es](mailto:mjuan@clinic.ub.es)

Gracias por la colaboración.

## **Apèndix 2**





## Apèndix 2: Article IDCV i limfoma

---



## Non-Hodgkin lymphoma in pediatric patients with common variable immunodeficiency

Monica Piquer Gibert · Laia Alsina · María Teresa Giner Muñoz · Ofelia Cruz Martínez · Karen Ruiz Echevarria · Olga Dominguez · Ana María Plaza Martín · Juan I. Arostegui · Guillem de Valles · Manel Juan Otero · Maria Anunciacion Martin-Mateos

Received: 15 September 2014 / Revised: 4 February 2015 / Accepted: 13 February 2015 / Published online: 10 March 2015  
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015

**Abstract** Common variable immunodeficiency (CVID) is a heterogeneous primary immunodeficiency associated with an increased risk of malignancy in adulthood, with lymphoma as one of the major causes of death. The aim of this study is to describe those malignancies detected in our cohort of pediatric CVID patients. We reviewed the clinical and laboratory data and the treatments and their outcomes in all pediatric CVID patients from our institution that developed a neoplasia. Four

malignancies were diagnosed in three out of 27 pediatric CVID patients. Three malignancies were non-Hodgkin lymphoma (NHL) of B cell origin (mean age at diagnosis: 8 years old), and the remaining was a low-grade astrocytoma. Among NHL, two were mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphomas and one was associated with Epstein-Barr virus infection. NHL developed before CVID diagnosis in two patients. CVID patients showed different clinical phenotypes

Communicated by David Nadal

Manel Juan Otero and Maria Anunciacion Martin-Mateos share senior co-authorship.

Revisions received: 05 December 2014 / 03 February 2015

M. Piquer Gibert · L. Alsina · M. T. Giner Muñoz · K. Ruiz Echevarria · O. Dominguez · A. M. Plaza Martín · M. A. Martin-Mateos  
Pediatric Allergy and Clinical Immunology Department, Hospital Sant Joan de Déu-Universitat de Barcelona, Passeig Sant Joan de Déu, 2, 08950 Esplugues de Llobregat, Barcelona, Spain

L. Alsina  
e-mail: lalsina@hsjdbcn.org

M. T. Giner Muñoz  
e-mail: mginer@hsjdbcn.org

K. Ruiz Echevarria  
e-mail: kruiuz@hsjdbcn.org

O. Dominguez  
e-mail: odominguez@hsjdbcn.org

A. M. Plaza Martín  
e-mail: aplaza@hsjdbcn.org

M. A. Martin-Mateos  
e-mail: mamartinmateos@gmail.com

O. Cruz Martínez  
Oncology Pediatric Department, Hospital Sant Joan de Déu-Universitat de Barcelona, Passeig Sant Joan de Déu, 2, 08950 Esplugues de Llobregat, Barcelona, Spain  
e-mail: ocruz@hsjdbcn.org

J. I. Arostegui · M. Juan Otero  
Immunology Department–CDB, Hospital Clinic-IDIBAPS, Calle Villarreal, 170, 08036 Barcelona, Spain

J. I. Arostegui  
e-mail: jiaroste@clinic.ub.es

M. Juan Otero  
e-mail: mjuan@clinic.ub.es

M. Piquer Gibert (✉) · L. Alsina · M. T. Giner Muñoz · O. Dominguez · A. M. Plaza Martín · J. I. Arostegui · M. Juan Otero · M. A. Martin-Mateos  
Functional Unit of Immunology, Hospital Sant Joan de Déu-Hospital Clinic, Barcelona, Spain  
e-mail: mpiquer@hsjdbcn.org

G. de Valles  
IBE-Institute of Evolutionary Biology (UPF-CSIC), Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, Catalonia, Spain  
e-mail: guillem.devalles@upf.edu

and belonged to different groups according Euroclass and Pediatric classification criteria.

**Conclusions:** Malignancies, especially lymphoma, may develop in pediatric CVID patients with no previous signs of lymphoid hyperplasia and even before CVID diagnosis. Consequently, strategies for cancer prevention and/or early diagnosis are required in pediatric CVID patients.

#### What is Known:

- *Non-Hodgkin lymphomas are the most frequent neoplasm reported in pediatric CVID patients.*
- *“Polyclonal lymphoproliferation” clinical phenotype is associated with increased risk of lymphoid malignancy and group smB-T<sup>hi</sup> of the Euroclass classification with an increased risk of lymphadenopathy.*

#### What is New:

- *We report a higher incidence of non-Hodgkin lymphomas compared to previous publications in pediatric patients, and our patients are younger than reported.*
- *None of our patients belongs to “polyclonal lymphoproliferation” clinical phenotype, and a common B cell subphenotyping (smB+ 21<sup>lo</sup>) was identified in two of the three patients.*

**Keywords** Common variable immunodeficiency · Epstein-Barr virus · MALT lymphoma · Pediatric · Rituximab · Second neoplasm

#### Abbreviations

APRIL	A proliferation-inducing ligand
BAFF	B cell activating factor
CHOP	Cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisone
CMV	Cytomegalovirus
COPADM	Cyclophosphamide, vincristine, prednisolone, doxorubicine, methotrexate chemotherapy
CSF	Cerebrospinal fluid
CT	Computed tomography
CVID	Common variable immunodeficiency
CYVE	Cytarabine, etoposide
FDG-PET	18-Fluoro-deoxyglucose positron emission tomography
EBV	Epstein-Barr virus
HHV8	Human herpes virus 8
IgA	Immunoglobulin A
IgG	Immunoglobulin G
IgM	Immunoglobulin M
IRT	Immunoglobulin replacement therapy
LMB	B cell non-Hodgkin lymphoma and Burkitt lymphoma/leukemia
MALT	Mucosa-associated lymphoid tissue
NHL	Non-Hodgkin lymphomas
PCR	Polymerase chain reaction
qRT-PCR	Reverse transcriptase PCR
SIR	Standardized incidence ratio
WHO	World Health Organization

#### Introduction

Common variable immunodeficiency (CVID) is a primary immunodeficiency disorder characterized by recurrent sinopulmonary infections, autoimmune disorders, granulomatous disease, and an increased risk of malignancy (12–18-fold over general population) [15, 18]. CVID affects both children and adults, with an estimated prevalence of 1 case per 25,000–50,000 individuals [20]. The hallmark of CVID is hypogammaglobulinemia due to impaired B cell differentiation. CVID is a heterogeneous disease, with patients suffering mainly from infections, and others particularly prone to non-infectious complications. These differences seem to correlate with their particular B cell phenotype.

Immunoglobulin replacement therapy (IRT) reduces the number and severity of bacterial infections, decreases the antibiotic use and hospitalizations, and probably enhances survival. However, IRT does not protect against the development of malignancies nor other non-infectious complications such as granulomatous disease [3, 11]. In this sense, different studies have shown that chronic lung disease and malignancies represent the major causes of death in CVID patients [4, 16, 18, 20]. CVID patients display a variety of immune and dysregulation abnormalities, but the extent to which these disorders increase the susceptibility to lymphoid malignancies is unclear.

The studies reported a 12 to 259-fold increase in the risk of lymphoma in CVID patients [9, 14, 15, 18]. The Australian study with 416 CVID patients reported a SIR of 12.1 (95 % CI 6.03–21.0) of NHL [23]. The most frequently diagnosed malignancy are B cell non-Hodgkin lymphomas (NHL), usually Epstein-Barr Virus (EBV) negative, which present in the fourth to seventh decade of life [6]. They are subclassified into specific B cell phenotypes as mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma, marginal zone lymphoma, and T cell-rich B cell EBV-associated lymphoma. Several reports note that lymphoma is more common in female patients [9, 20].

Pediatric data about malignancies in CVID patients are limited. In the Urschel series, 4/32 children developed malignancy: two had Hodgkin disease and two had NHL (one of them Burkitt lymphoma) [22]. Ogershok et al. describe a patient with undifferentiated sarcoma prior to the diagnosis of CVID [17]. In the Mohammedinejad study, 7 patients had lymphoma (3 Hodgkin diseases and 1 NHL) [16]. Three malignancies (leukemia, lymphoma, and melanoma) were described in 45 pediatric patients in Yong cohort [27].

The aim of this study was to review the cases of malignancy in our cohort of pediatric CVID patients. We report three patients diagnosed with B cell lineage lymphoma, one of them associated with Epstein-Barr virus infection. One patient developed additionally a low-grade astrocytoma.

## Methods

We reviewed the clinical charts of CVID patients diagnosed at Hospital Sant Joan de Déu between 2000 and 2013. The CVID diagnosis was achieved following the criteria defined by the European Society for Immunodeficiencies and the Pan-American Group for immunodeficiency [7]. The family histories, clinical features, laboratory findings, and treatments and their outcomes were recorded.

The immune work-up to diagnose CVID included peripheral blood counts, complete T, B, and NK cells immunophenotypes, serum immunoglobulin levels, humoral response to vaccines, isohemagglutinin titers, and proliferative assays with conventional mitogens. When necessary, additional studies were performed to exclude other causes of hypogammaglobulinemia and other primary immunodeficiencies. B cell activating factor (BAFF) and A proliferation-inducing ligand (APRIL) serum levels were also quantified by conventional ELISA, develop following manufacturer's instructions (eBioscience®); reference levels of these cytokines are the one defined in our lab. The Ethical Committee of Hospital Sant Joan de Déu approved this study. Our institution is a tertiary mother and child care center; it is a referral center for pediatric specialties. The patients reported were treated from the initial diagnosis in our institution, with the exception of the patient 3. A written informed consent was obtained from all parents.

## Patients and results

The pediatric CVID cohort diagnosed in our institution includes twenty-seven patients. Three of them were diagnosed with B cell lymphoma, and one out of three also developed a low-grade astrocytoma. No other malignancies were registered in this cohort during the follow-up. Detailed information on each of the three CVID patients with malignancies is presented below (See Table 1 for additional information).

### Patient 1

She is a 20-year-old Caucasian woman with syndactyly between 2nd and 3rd toes who presented with recurrent tonsillitis and otitis, and pneumonia at 3 and 4 years of age, respectively. Adenoidectomy was performed at 5 years.

At 11 years, she presented with an inguinal tumor subsequently diagnosed as NHL (low-grade B cell marginal lymphoma, stage II). Serum anti-EBV IgG was positive. She was treated with chemotherapy (cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone every 21 days for 6 cycles) and complete remission was obtained.

At 13 years, she developed autoimmune hemolytic anemia (AIHA) that was difficult to control with steroids, requiring 2 cycles of rituximab (375 mg/m<sup>2</sup>/weekly for 4 weeks), spaced 6 months apart. At 15, 2 years after finishing rituximab, B cell lymphopenia practically recovered with persistent hypogammaglobulinemia of IgG and IgA (first detected at lymphoma diagnosis). Autoimmune lymphoproliferative disease was reasonably ruled out by normal number of double negative T cells. Then, she was diagnosed as CVID and IRT was started.

At 16 years, she developed a right submandibular lymphadenopathy. Pathology studies revealed a marginal zone lymphoma (MALT type). EBV was negative by *in situ* hybridization and by latent membrane protein. Both neoplasms were low-grade marginal zone lymphomas, with similar histology and IHC results. Treatment with rituximab was given.

A decrease of IgG, IgA, and IgM was detected at diagnosis of lymphoma (11 years old). No immunoglobulin levels were obtained before lymphoma diagnosis. Two years after finishing lymphoma treatment, and coinciding with the diagnosis of AIHA, IgM was normal (1015 mg/L (522–3350)). AIHA required treatment with monoclonal antibody rituximab, and after the second course of rituximab, IgM diminished and never reached normal age-matched values again. Three years after finishing rituximab, immunoglobulin levels: IgG 5235 mg/L (6500–15,000), IgA 540 mg/L (760–3900), and IgM 269 mg/L (400–3450).

At 18 years, she was transferred to an adult center, where a recurrence of the MALT lymphoma has been recently detected.

### Patient 2

She is a 16-year-old girl born to first-cousin parents from North African ancestry. She was diagnosed with chronic diarrhea of unknown origin and somatic stagnation since early infancy. At 8 years, she was first visited in our institution. The physical examination revealed pallor, laterocervical lymphadenopathy, bilateral pulmonary rales, and splenomegaly. Hypogammaglobulinemia and anemia were detected. After a complete immune work-up, CVID was diagnosed and IRT started. An intestinal biopsy revealed normal villi and increased (predominantly lymphocytic) inflammatory infiltration. Pulmonary function tests showed a mixed pattern without response to bronchodilators. Thoracic computed tomography (CT) evidenced multiple pulmonary nodules and lymphadenopathies (See Fig. 1). These lesions enhanced at FDG-PET. A lung biopsy confirmed a low-grade marginal zone lymphoma. There was an atypical lymphoid population of cells that presented CD20, CD79a, lambda chain restriction, and bcl-2 IHC positivity. LMP-1 and *in situ* hybridization for VEB RNA, as well as CD3, CD5, and CD43 were negative in

**Table 1** Clinical and laboratory characteristics of the patients related to CVID and lymphoma

	Patient 1	Patient 2	Patient 3
Gender	Female	Female	Male
Consanguinity	No	Yes	No
Family history of:			
Immunodeficiency	No	No	No
Autoimmunity	Yes	No	No
Malignancy	Yes	No	Yes
1st symptom (age)	Lymphoma (11 y)	Chronic diarrhea (1 y)	Failure to thrive (4 y)
<b>CVID</b>			
Age at diagnosis	15 y 11 m	8 y	6 y 3 m
Phenotypes:			
No disease-related complications	No	No	Yes
Autoimmune cytopenias	Yes	No	No
Polyclonal lymphoproliferation	No	No	No
Unexplained persistent enteropathy	No	Yes	No
EUROClass group	smB+21 <sup>lo</sup> Tr <sup>norm</sup>	smB-	smB+21 <sup>lo</sup> Tr <sup>high</sup>
Pediatric classification	Group II	Group I	Group II
IgG (mg/L) in serum at diagnosis	6565 (6700–14,300)	1835 (6360–16,800)	2902 (6630–13,700)
IgA (mg/L) in serum at diagnosis	253 (690–2940)	175 (457–2230)	471 (346–1910)
IgM (mg/L) in serum at diagnosis	98 (522–3350)	55 (541–2300)	347 (446–1960)
BAFF (ng/mL) in serum	<0.31 (<1)	<0.31 (<1)	0.71 (<1)
APRIL (ng/mL) in serum	14.31 (<10)	20.69 (<10)	12.33 (<10)
<b>LYMPHOMA</b>			
Age at diagnosis	11 y 11 m	8 y	4 y 7 m
Type	NHL	NHL	NHL
Subtype	MALT	MALT	Burkitt
Staging	Stage II	Stage II	Stage IV
EBV status tumor:			
In situ hybridization	Negative	Negative	Unknown
PCR	Negative	Positive	Unknown
EBV plasma status	IgG EBV+	PCR+ (whole blood)	IgM EBV–
Primary site	Inguinal adenopathy	Pulmonary	Diffuse/abdominal
Therapy	CHOP	Rituximab	COPADM-CYVE, Rx
Outcome	Recurrence	Remission	Remission 2nd neoplasia <sup>a</sup>

Y year; m month; BAFF B cell activating factor; APRIL A proliferation-inducing ligand; NHL non-Hodgkin lymphoma; MALT mucosa-associated lymphoma tissue; EBV Epstein-Barr virus; COPADM cyclophosphamide, vincristine, prednisolone, doxorubicine, methotrexate chemotherapy; CYVE cytarabine, etoposide; Rx radiation therapy; CHOP cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisone

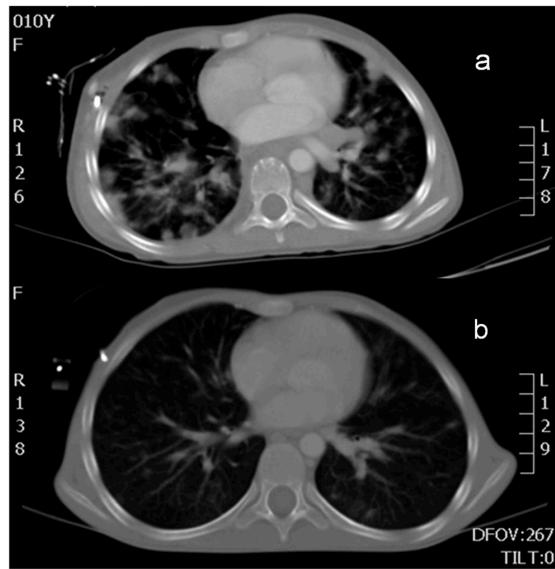
<sup>a</sup> Pleomorphic xanthoastrocytoma

the malignant cells. The molecular study confirmed a clonal B expansion. Viral PCR study in the biopsy was positive for EBV and negative for herpes virus 1,2,6,7, and 8, cytomegalovirus (CMV), and VZV. Work-up staging for the NHL showed normal cerebrospinal fluid (CSF) and bone marrow cytology. Treatment with the anti-CD20 monoclonal antibody rituximab was performed (dose of 375 mg/m<sup>2</sup>; 4 weekly induction doses followed by a 4 monthly consolidation dosing and bi-monthly maintenance doses until 2 years of treatment), with complete remission.

However, as the chronic diarrhea persisted an endoscopy was performed showing colonic ulcers with positive CMV-PCR. At 14 years, she suffered from a severe outbreak of colitis with poor response to different treatments. Finally, she underwent a total colectomy with ileostomy, and pathology analysis showed indeterminate inflammatory disease.

She remains currently stable, with persistent failure to thrive, with no diarrhea, and with secondary osteoporosis.

At CVID diagnosis, lymphoid populations: B lymphocytes 11 %, T lymphocytes 78 %, CD4 T cells 68 %, CD8 T cells



**Fig. 1** Patient 2: **a** Thoracic CT at lymphoma diagnosis shows multiple bilateral pulmonary parenchymal and subpleural nodules, mediastinal, hilar, and axillary lymphadenopathies. **b** Thoracic CT, 1 year after rituximab treatment, showing disappearance of the lung nodules

31 %, NK cells 11 %, and normal lymphocyte proliferation to concanavalin A and PHA. She had IgG, IgA, and IgM low levels, with total B lymphocytes of  $165/\text{mm}^3$  (11 % of total lymphocytes) before treatment with rituximab. After treatment with rituximab, and over a follow-up of 4 years, she has never recovered B cells (0–2 % of total lymphocytes) nor immunoglobulin levels (IgA <10 mg/L, IgM <50 mg/L). Correct expression of CD40 was confirmed.

#### Patient 3

He is a 14-year-old Caucasian boy with previous complaints of severe chickenpox at the age of 18 months and a recurrent bronchitis until 3 years old. One year later, he was diagnosed in another institution with a stage 4 abdominal Burkitt lymphoma, with liver metastases and central nervous system dissemination. Chemotherapy (LMB89 group 3, COPADM-CYVE, and intrathecally chemotherapy) plus craniospinal radiation were performed, developing a herpes zoster virus infection at that time.

At 6 years, he was diagnosed with CVID and started IRT. Persistent cerebellar changes prompted to perform a stereotactic biopsy, with non-neoplastic results. He also had a short height since 4 years of age diagnosed with growth hormone deficiency at the age of 11 years. The endocrine surveillance showed normal results of serum cortisol, TSH, FT4, LH, FSH, and testosterone. The patient was treated with supplemental GH. After 4 month of therapy, control evidenced minimal

changes on cerebellar lesions and this therapy was stopped. However, these cerebellar changes progressed to an enhancing nodular tumor, which was resected at 13 years of age and pathology studies established the diagnosis of pleomorphic xanthoastrocytoma (WHO grade-2). No adjuvant therapy was given, with post-surgical stable tumor rest.

Since 7 years of age, he presents bronchial asthma and allergic rhinoconjunctivitis caused by seasonal allergy to grass. Skin prick tests were performed using a standard aeroallergen panel (dust mite, *Alternaria*, *Cladosporium*, cat and dog epitheliums, and pollens: *Cupressus*, *Parietaria*, grasses, *Olea*, and *Salsola*). The prick test showed sensitization to grasses. He is currently clinically stable but with allergy and persistence of low height.

At the time of lymphoma diagnosis, IgG levels were: IgG 2810 mg/L (4780–13,100), IgA 220 mg/L (271–1470), IgM 180 mg/L (398–1860), IgE 12 KUI/L (0–82). At the diagnosis with CVID, 2 years after lymphoma, the patient had normalized IgA but lacked vaccine responses. Seven years later, given the clinical stability of the patient and in agreement with the patient and the family, we decided to interrupt IRT to reevaluate CVID diagnosis. The evaluation of serum levels of immunoglobulin confirmed low IgG and IgA levels (IgG 5817 mg/L (6500–15,000), IgA 692 mg/L (760–3900), and IgM 681 mg/L (400–3450)) with lack of protection against measles and rubella, and without vaccine response, as well as a rapid loss of protective IgG levels against diphtheria, tetanus, and pneumococcus in subsequent blood draws. SAP and XIAP defects were ruled out by intracellular staining and flow cytometry analysis and negative results of mutational analyses of SH2D1A and BIRC4 genes.

#### Discussion

We herein describe three pediatric CVID patients who developed NHL, one of them associated with EBV infection. Additionally, one patient developed during the course of his disease a low-grade astrocytoma. CVID complications include a high risk of malignancy, especially lymphoma and gastric cancer [4, 9, 12, 23]. Lymphoma can be considered one of the more severe complications of CVID, and currently the cause of this increased risk is unclear, although it seems to be multifactorial: genetics, immune dysregulation, and chronic infectious agents (oncogenic virus such as EBV) interplay in the development of the malignancy [6].

Because of the heterogeneity of CVID, several classifications have been proposed for grouping patients and defining the risk of complications. The Euroclass classification is based on B cell phenotype: patients belonging to group smB-Tr<sup>hi</sup> have an increased risk of lymphadenopathy [25]. Patients with polyclonal lymphocytic infiltration or persistent lymphadenopathy have an increased risk of



lymphoid malignancy [4]. In the pediatric classification proposed by Yong et al., the group I (<5 switched memory B cells) has a higher prevalence of complications, including lymphadenopathy and malignancies; although group I has 3 malignancies (1 leukemia, 1 lymphoma, and 1 melanoma) and none in group II, the differences in frequency were not statistically significant [27]. The van-de-Ven pediatric series confirmed that pediatric CVID patients with <5 cells/ $\mu$ l switched memory B cells have an increased prevalence of clinical complications; however, higher number of switched memory B cells do not exclude severe complications [24]. In our cohort, only patient 2 showed splenomegaly, <5 cells/ $\mu$ l switched memory B cells and SmB- at Euroclass classification. Instead, the other two CVID patients showed >5 cells/ $\mu$ l switched memory B cells and smB+21<sup>lo</sup>, as a common feature. In the Euroclass classification, the smB+21<sup>lo</sup> group is associated with splenomegaly while transitional B cell expansion was significantly linked with lymphadenopathy [25].

Malignancy was one of the 5 clinical phenotypes in the CVID classification proposed by Chapel et al. [4]. In this classification, patients with polyclonal lymphadenopathy were shown to have 5-fold increased risk of lymphoid malignancy [4]. Lymphoid malignancy occurred late in the progress of the disease and almost always in patients with preexisting polyclonal lymphocytic infiltration [4]. In a subsequent revision, the “malignancy phenotype” was removed as CVID may not be the primary event [5]. Our series show that lymphoma can definitively appear in young pediatric CVID patients, at a median of 8 years old, and without previous polyclonal lymphadenopathy. Patient 3 was first diagnosed with lymphoma but infections and failure to thrive were probably already a symptom of CVID that was not diagnosed [2]. Moreover, patient 1 was initially diagnosed with lymphoma and subsequently developed different symptoms related to CVID. Although lymphoma diagnosis does not allow the definitive diagnosis of CVID, the course of this patient raises the impression that a previously undiagnosed CVID underlies the manifestation of lymphoma. Early age at onset of lymphoma and immunodeficiency in our patients led us to perform genetic studies to rule out genetic predisposition to lymphoproliferative disease as well as other primary immunodeficiencies. New genetic diseases have been recently discovered in patients previously diagnosed as CVID. Some of these mutations are associated with predisposition to lymphoproliferative disorders such as PIK3CD, PRKCD, Notch1, SH2D1A, or XIAP. In this sense, we believe genetic work-up is indicated in patients with CVID, especially in pediatric patients presenting with signs of lymphoma, immunodysregulation, and/or autoimmunity. Interestingly, our 3 patients belong to different classification groups, their clinical phenotypes do not overlap, but all of them developed a malignancy, which was a MALT lymphoma in two of them.

Lymphomas that occur in CVID patients are more likely to be of B cell origin. There is a predominance of NHL, generally in 4th to 7th decades and rarely in children, frequently extranodal and usually EBV negative [6]. A retrospective study on lymph node biopsies from primary immunodeficiency patients showed that 16/19 samples positive for lymphoma were from CVID patients, being most of them NHL and EBV negative by in situ hybridization [13]. The relevance of infection in the etiology of lymphoproliferation in patients with CVID is discussed by da Silva et al., who reported a CVID patient with skin lesions staining positive for EBV which were consistent with MZ lymphoma [10]. Lymphoma in our cohort of pediatric CVID patients developed in earlier ages, with one patient diagnosed for Burkitt lymphoma at 4 years of age and two patients diagnosed for MALT lymphoma at 8 and 11 years old. In situ hybridization for EBV-encoded RNA was available in two patients (1 and 2), being negative in both. EBV was found by PCR in the biopsy of patient 2, not in patient 1, and unknown in patient 3.

In the CVID cohort of Cunningham-Rundles et al., 23 % malignancies were of MALT type [8]. Previously, only eleven cases of MALT in CVID were reported. The majority of cases affected the lung; the rest involved the parotid gland, sinuses, orbital cavity, and stomach [1, 8]. This contrasts with the location of MALT in non-CVID cohorts where the stomach is the most common affected organ. This is surprising considering that *Helicobacter pylori*, which is implicated in the MALT development, is common in CVID patients. In our pediatric CVID patients, the MALT lymphoma had also affected lung, adenopathy, and parotid glands. There is evidence of natural history of MALT lymphoma to the possibility to progress to a higher-grade histological subtype [10]. Management of immunocompetent patients with non-gastric MALT lymphoma usually includes B cell depletion using monoclonal antibodies with or without chemotherapy. In patients with primary immunodeficiencies, standard chemotherapy regimens are not well tolerated. Rituximab may achieve complete remission in CVID patients with B cell lymphoma. Consequently, it should be considered using rituximab as monotherapy or associated with reduced chemotherapy [10, 21]. One of our patients was treated with rituximab as monotherapy achieving complete remission, with no relapses after 6 years of follow-up. The MALT lymphoma detected in patient 1 was initially treated with chemotherapy. The MALT lymphoma relapsed and a complete remission was achieved with rituximab. Unfortunately, 3 years after that remission, a second relapse was recently detected in the adult center in which she is currently visited.

The role of infectious agents has been investigated in CVID patients. Wheat et al. showed the presence of human herpes virus 8 in 6/9 CVID patients with granulomatous and

lymphomatous interstitial lung disease [26]. One of these patients developed NHL (high copy numbers of HHV8 was found by qRT-PCR in the malignant lymph node) and another one developed MALT lymphoma. Raeiszadeh's study described a 13-fold increase of CD8+ T cells specific for CMV derived peptides in CVID patients compared with controls [19]. Clinical observation suggests that an exaggerated T cell response to CMV may cause or exacerbate enteropathy in CVID [19]. In our cohort, patient 2 showed CMV-PCR positivity in colonic biopsies and severe outbreak of colitis leading to total colectomy years after lymphoma. We performed qRT-PCR for HHV6, 7, and 8 in serum and peripheral blood mononuclear cells for patient 2 and 3 with negative results, also negative HHV8 PCR in lung biopsy of patient 2. Of consideration, our patients are CVID without granulomatous or lymphomatous interstitial lung disease as in Wheat study. *Helicobacter pylori* infection and pernicious anemia are risk predictors for gastric cancer in the general population and also in CVID patients [12]. None of published series reported gastric cancer in pediatric CVID patients, neither in our patients.

Concerning other solid neoplasias, astrocytic tumors have not been described in CVID. On the subject of the xanthoastrocytoma diagnosis, we believe that it was present from the beginning of the NHL diagnosis. The MRI at NHL diagnosis showed cerebellar nodular changes which were diagnosed as lymphoma's CNS involvement, in another institution. At the end of NHL therapy, the MRI was unmodified; this was supposed in the other institution as refractory disease in the CNS. For this reason, he was treated with craniospinal irradiation. When we saw for the first time this patient, the biopsy of the lesion was not diagnostic of residual NHL and yielded unspecific results. At that moment, we believed that the CNS changes were related to the therapy and decided to follow up. Along the years, this MRI changes were slowly growing until the moment of the biopsy and astrocytoma diagnosis. Although we cannot assure that the 2 tumors occurred simultaneously in the absence of biopsy prior to chemo- and radiotherapy, and despite it is well known that his young age at the time of radiotherapy is a risk factor for developing a second malignancy such as malignant astrocytoma, we believe that the tumor's coincidence is a reasonable hypothesis, based on the existence of the lesion at the time of lymphoma's diagnosis, the lack of response to its treatment, the short latency, and the benignity of astrocytoma.

After the incomplete resection of the low-grade astrocytoma, the tumor board decision for this patient was to perform strict follow-up, without adjuvant therapy. From this time, he has been under clinical and MRI surveillance. One year after neurosurgery, the tumor rests remain stable and without clinical repercussion.

In conclusion, CVID is a complex and heterogeneous immune disorder in which pediatric patients can present with malignancy. Since neither a particular immunological

nor clinical phenotyping is clearly associated with an increased risk of developing malignancy, we recommend performing screening and prevention of modifiable factors for cancer in all CVID patients regardless of their age. Moreover, in pediatric patients with immunodeficiency and lymphoma, a screening for underlying genetic defects should be considered.

**Acknowledgments** The authors would like to thank our patients and their families for their confidence and the multidisciplinary team involved in the care of these patients. We gratefully acknowledge Ferran Casals for the genetic analyses supported by SAF2012-35025 grant from the Spanish Ministerio de Economía y Competitividad.

**Conflict of interest** The authors declare that they have no conflict of interest.

**Author's contributions** M.P.G. was involved in clinical monitoring of patients, acquisition and interpretation of data and drafting of the manuscript; L.A. in data analysis and revision of the manuscript; MT.G.M. in clinical monitoring of patients and preparation of figure and table; O.C.M. contributed with clinical monitoring of patients and critical revision of the manuscript; K.R.E., O.D. and AM.P.M. with collection and analysis of data; J.I.A. and G.V. made genomic DNA sequencing and analysis; M.J.O. developed and analyzed in vitro assays and phenotyping, being also responsible along with MA.M.M. of coordination and supervision of research work and data analysis, and critical revision of the manuscript; in general all the authors discussed and revised the manuscript.

## References

1. Aghamohammadi A, Parvaneh N, Targari F, Mahjoob F, Movahedi M, Gharagozlou M et al (2006) Lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue in common variable immunodeficiency. *Leuk Lymphoma* 47(2):343–346. doi:10.1080/10428190500285285
2. Baron-Ruiz I, Martin-Mateos MA, Plaza-Martin AM, Giner-Munoz MT, Piquer M (2009) Lymphoma as presentation of common variable immunodeficiency. *Allergol Immunopathol* 37(1):51–53
3. Busse PJ, Razvi S, Cunningham-Rundles C (2002) Efficacy of intravenous immunoglobulin in the prevention of pneumonia in patients with common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 109(6):1001–1004. doi:10.1067/mai.2002.124999
4. Chapel H, Lucas M, Lee M, Bjorkander J, Webster D, Grimbacher B et al (2008) Common variable immunodeficiency disorders: division into distinct clinical phenotypes. *Blood* 112(2):277–286. doi:10.1182/blood-2007-11-124545
5. Chapel H, Lucas M, Patel S, Lee M, Cunningham-Rundles C, Resnick E et al (2012) Confirmation and improvement of criteria for clinical phenotyping in common variable immunodeficiency disorders in replicate cohorts. *J Allergy Clin Immunol* 130(5):1197–1198.e9. doi:10.1016/j.jaci.2012.05.046
6. Chua I, Quinti I, Grimbacher B (2008) Lymphoma in common variable immunodeficiency: interplay between immune dysregulation, infection and genetics. *Curr Opin Hematol* 15(4):368–374. doi:10.1097/MOH.0b013e328302c7b6
7. Conley ME, Notarangelo LD, Etzioni A (1999) Diagnostic criteria for primary immunodeficiencies. Representing PAGID (Pan-American Group for Immunodeficiency) and ESID (European Society for Immunodeficiencies). *Clin Immunol* 93(3):190–197. doi:10.1006/clim.1999.4799

8. Cunningham-Rundles C, Cooper DL, Duffy TP, Strancken J (2002) Lymphomas of mucosal-associated lymphoid tissue in common variable immunodeficiency. *Am J Hematol* 69(3):171–178
9. Cunningham-Rundles C, Siegal FP, Cunningham-Rundles S, Lieberman P (1987) Incidence of cancer in 98 patients with common varied immunodeficiency. *J Clin Immunol* 7(4):294–299
10. Da Silva SP, Resnick E, Lucas M, Lortan J, Patel S, Cunningham-Rundles C et al (2011) Lymphoid proliferations of indeterminate malignant potential arising in adults with common variable immunodeficiency disorders: unusual case studies and immunohistological review in the light of possible causative events. *J Clin Immunol* 31(5):784–791. doi:10.1007/s10875-011-9565-z
11. De Gracia J, Vendrell M, Alvarez A, Pallisa E, Rodrigo MJ, de la Rosa D et al (2004) Immunoglobulin therapy to control lung damage in patients with common variable immunodeficiency. *Int Immunopharmacol* 4(6):745–753. doi:10.1016/j.intimp.2004.02.011
12. Dhalla F, da Silva SP, Lucas M, Travis S, Chapel H (2011) Review of gastric cancer risk factors in patients with common variable immunodeficiency disorders, resulting in a proposal for a surveillance programme. *Clin Exp Immunol* 165(1):1–7. doi:10.1111/j.1365-2249.2011.04384.x
13. Gompels MM, Hodges E, Lock RJ, Angus B, White H, Larkin A et al (2003) Lymphoproliferative disease in antibody deficiency: a multicentre study. *Clin Exp Immunol* 134(2):314–320
14. Kinlen LJ, Webster AD, Bird AG, Haile R, Peto J, Soothill JF, Thompson RA (1985) Prospective study of cancer in patients with hypogammaglobulinaemia. *Lancet* 1(8423):263–266
15. Mellemkjaer L, Hammarstrom L, Andersen V, Yuen J, Heilmann C, Barington T et al (2002) Cancer risk among patients with IgA deficiency or common variable immunodeficiency and their relatives: a combined Danish and Swedish study. *Clin Exp Immunol* 130(3):495–500. doi:10.1046/j.1365-2249.2002.02004.x
16. Mohammadinejad P, Aghamohammadi A, Abolhassani H, Sadaghiani MS, Abdollahzade S, Sadeghi B et al (2012) Pediatric patients with common variable immunodeficiency: long-term follow-up. *J Invest Allergol Clin Immunol* 22(3):208–214
17. Ogershok PR, Hogan MB, Welch JE, Corder WT, Wilson NW (2006) Spectrum of illness in pediatric common variable immunodeficiency. *Ann Allergy Asthma Immunol* 97(5):653–656. doi:10.1016/S1081-1206(10)61096-4
18. Quinti I, Soresina A, Spadaro G, Martino S, Donnanno S, Agostini C et al (2007) Long-term follow-up and outcome of a large cohort of patients with common variable immunodeficiency. *J Clin Immunol* 27(3):308–316. doi:10.1007/s10875-007-9075-1
19. Raeiszadeh M, Kopycinski J, Paston SJ, Diss T, Lowdell M, Hardy GAD et al (2006) The T cell response to persistent herpes virus infections in common variable immunodeficiency. *Clin Exp Immunol* 146(2):234–242. doi:10.1111/j.1365-2249.2006.03209.x
20. Resnick ES, Moshier EL, Godbold JH, Cunningham-Rundles C (2012) Morbidity and mortality in common variable immune deficiency over 4 decades. *Blood* 119(7):1650–1657. doi:10.1182/blood-2011-09-377945
21. Shabbat S, Aharoni J, Sarid L, Ben-Harush M, Kapelushnik J (2009) Rituximab as monotherapy and in addition to reduced CHOP in children with primary immunodeficiency and non-Hodgkin lymphoma. *Pediatr Blood Cancer* 52(5):664–666. doi:10.1002/pbc.21808
22. Urschel S, Kayikci L, Wintergerst U, Notheis G, Jansson A, Belohradsky BH (2009) Common variable immunodeficiency disorders in children: delayed diagnosis despite typical clinical presentation. *J Pediatr* 154(6):888–894. doi:10.1016/j.jpeds.2008.12.020
23. Vajdic CM, Mao L, van Leeuwen MT, Kirkpatrick P, Grulich AE, Riminton S (2010) Are antibody deficiency disorders associated with a narrower range of cancers than other forms of immunodeficiency? *Blood* 116(8):1228–1234. doi:10.1182/blood-2010-03-272351
24. Van de Ven AA, van Montfrans JM (2011) Clinical complications in pediatric CVID are not restricted to patients with severely reduced class-switched memory B cells. *Pediatr Allergy Immunol* 22(3):347–348. doi:10.1111/j.1399-3038.2010.01085.x
25. Wehr C, Kivioja T, Schmitt C, Ferry B, Witte T, Eren E et al (2008) The EUROclass trial: defining subgroups in common variable immunodeficiency. *Blood* 111(1):77–85. doi:10.1182/blood-2007-06-091744
26. Wheat WH, Cool CD, Morimoto Y, Rai PR, Kirkpatrick CH, Lindenbaum BA et al (2005) Possible role of human herpesvirus 8 in the lymphoproliferative disorders in common variable immunodeficiency. *J Exp Med* 202(4):479–484. doi:10.1084/jem.20050381
27. Yong PL, Orange JS, Sullivan KE (2010) Pediatric common variable immunodeficiency: immunologic and phenotypic associations with switched memory B cells. *Pediatr Allergy Immunol* 21(5):852–858. doi:10.1111/j.1399-3038.2010.01004.x

## **Apèndix 3**



## Apèndix 3: Índex de Taules

---

<b>Taula 1.1:</b> Gens que codifiquen receptors i lligands .....	45
<b>Taula 1.2:</b> Gens que codifiquen molècules de senyalització intracel·lular .....	46
<b>Taula 3.1:</b> Valors de referència de les immunoglobulines en sèrum (mg/L) .....	68
<b>Taula 3.2:</b> Valors de referència de les subclasses d'IgG en sèrum (mg/L) .....	69
<b>Taula 3.3:</b> Valors de referència de les subpoblacions limfocitàries en sang perifèrica .....	70
<b>Taula 3.4:</b> Valors de referència de les subpoblacions limfocitàries B en sang perifèrica ...	71
<b>Taula 3.5:</b> Fenotips de resposta deficient a la vacuna antipneumocòccica 23-valent .....	79
<b>Taula 3.6:</b> Mesura normal de la melsa segons l'edat .....	80
<b>Taula 3.7:</b> Patrons bàsics en l'espirometria .....	81
<b>Taula 3.8:</b> Classificació de Marsh-Oberhuber modificada .....	83
<b>Taula 3.9:</b> Infeccions que mereixen una avaluació de la immunitat humoral .....	85
<b>Taula 4.1:</b> Dades de filiació i diagnòstic per pacient .....	124
<b>Taula 4.2:</b> Anàlisi de les dades de filiació dels pacients .....	125
<b>Taula 4.3:</b> Immunoglobulines, resposta vacunal i isoaglutinines al diagnòstic .....	127
<b>Taula 4.4:</b> Subclasses d'IgG al diagnòstic .....	128
<b>Taula 4.5:</b> Anàlisi de les característiques dels pacients al diagnòstic d'IDCV .....	129
<b>Taula 4.6:</b> Comparativa segons fenotips i manifestacions clíniques .....	134
<b>Taula 4.7:</b> Malalties infeccioses .....	138
<b>Taula 4.8:</b> Pacients amb malalties autoimmunitàries i tipus .....	139

<b>Taula 4.9:</b> Estudis analítics en els pacients amb malalties autoimmunitàries .....	141
<b>Taula 4.10:</b> Comparativa entre pacients amb i sense malaltia autoimmunitària .....	143
<b>Taula 4.11:</b> Pacients amb neoplàsia .....	155
<b>Taula 4.12:</b> Estudi de poblacions limfocitàries i estudi funcional de proliferació .....	164
<b>Taula 4.13:</b> Estudi de subpoblacions limfocitàries B .....	165
<b>Taula 4.14:</b> Estudi de subpoblacions limfocitàries T .....	166
<b>Taula 4.15:</b> Resultats i comparativa de les poblacions limfoides, subpoblacions B i estudi proliferació .....	167
<b>Taula 4.16:</b> Resultats i comparativa referents a l'activació de les subpoblacions T .....	169
<b>Taula 4.17:</b> Resultats de les proves complementàries .....	171
<b>Taula 4.18:</b> Determinacions per PCR de l'herpesvirus humà 6, 7 i 8 (en plasma i en DNA) en una mostra de pacients .....	173
<b>Taula 4.19:</b> Estudis d'haplotips i genotips de MBL .....	175
<b>Taula 4.20:</b> Descripció dels haplotips i genotips de MBL per grups de pacients .....	176
<b>Taula 4.21:</b> Determinació valors APRIL (ng/mL) i comparativa entre grups .....	178
<b>Taula 4.22:</b> Resposta vacuna antipneumocòccica 23-valent en global i per serotips .....	180
<b>Taula 4.23:</b> Valors basals i postvacunals (mcg/mL) dels 16 serotips estudiats, determinacions realitzades en una mostra de 14 pacients .....	181
<b>Taula 4.24:</b> Resultats de l'estudi de les variables quantitatives analitzat per sexes .....	183
<b>Taula 4.25:</b> Resultats destacables de l'estudi de les variables qualitatives analitzat per sexes .....	185
<b>Taula 4.26:</b> Comparativa entre Grup I i Grup II segons característiques de filiació i al diagnòstic .....	187

<b>Taula 4.27:</b> Comparativa entre Grup I i Grup II segons característiques clíniques, poblacions limfoides, PCR a herpesvirus humà 6, 7 i 8 i APRIL .....	188
<b>Taula 4.28:</b> Anàlisi dels pacients per subgrups segons defecte maduració cèl·lules B ....	190
<b>Taula 4.29:</b> Característiques pacients segons inici símptomes abans dels 5 o 10 anys ...	193
<b>Taula 4.30:</b> Variants codificants detectades amb l'anàlisi de l'exoma .....	195





## **Apèndix 4**



## Apèndix 4: Índex de Figures

---

<b>Figura 1.1:</b> Desenvolupament de la cèl·lula B i subtipus de cèl·lules B .....	27
<b>Figura 4.1: P02:</b> Evolutiu del nombre de limfòcits absoluts (Mil/mmcc) .....	144
<b>Figura 4.2: P02:</b> Evolutiu del nombre de limfòcits B (%) durant 4 anys, la darrera determinació és 18 mesos abans del tractament amb rituximab .....	145
<b>Figura 4.3: P02:</b> Evolutiu de la Immunoglobulina G (mg/L) .....	145
<b>Figura 4.4: P02:</b> Evolutiu de la Immunoglobulina A (mg/L) .....	146
<b>Figura 4.5: P02:</b> Evolutiu de la Immunoglobulina M (mg/L) .....	146
<b>Figura 4.6: P03:</b> Evolutiu del nombre de limfòcits absoluts (Mil/mmcc) .....	147
<b>Figura 4.7: P03:</b> Evolutiu del nombre de limfòcits B (%) .....	147
<b>Figura 4.8: P03:</b> Evolutiu de la Immunoglobulina G (mg/L) .....	148
<b>Figura 4.9: P03:</b> Evolutiu de la Immunoglobulina A (mg/L) .....	148
<b>Figura 4.10: P03:</b> Evolutiu de la Immunoglobulina M (mg/L) .....	149
<b>Figura 4.11: P22:</b> Evolutiu del nombre de limfòcits absoluts (Mil/mmcc) .....	149
<b>Figura 4.12: P22:</b> Evolutiu del nombre de limfòcits B (%) .....	150
<b>Figura 4.13: P22:</b> Evolutiu de la Immunoglobulina G (mg/L) .....	150
<b>Figura 4.14: P22:</b> Evolutiu de la Immunoglobulina A (mg/L) .....	151
<b>Figura 4.15: P22:</b> Evolutiu de la Immunoglobulina M (mg/L) .....	151
<b>Figura 4.16: P13:</b> Evolutiu del nombre de limfòcits absoluts (Mil/mmcc) .....	158
<b>Figura 4.17: P13:</b> Evolutiu del nombre de limfòcits B (%) .....	158
<b>Figura 4.18: P13:</b> Evolutiu de la Immunoglobulina G (mg/L) .....	159

<b>Figura 4.19: P13:</b> Evolutiú de la Immunoglobulina A (mg/L) .....	159
<b>Figura 4.20: P13:</b> Evolutiú de la Immunoglobulina M (mg/L) .....	160
<b>Figura 4.21: P15:</b> Evolutiú del nombre de limfòcits absoluts (Mil/mmcc) .....	160
<b>Figura 4.22: P15:</b> Evolutiú del nombre de limfòcits B (%) .....	161
<b>Figura 4.23: P15:</b> Evolutiú de la Immunoglobulina G (mg/L) .....	161
<b>Figura 4.24: P15:</b> Evolutiú de la Immunoglobulina A (mg/L) .....	162
<b>Figura 4.25: P15:</b> Evolutiú de la Immunoglobulina M (mg/L) .....	162
<b>Figura 4.26:</b> Cromatogrames corresponent a la validació de la mutació al gen <i>LRBA</i> a la pacient i familiars .....	198
<b>Figura 4.27:</b> Línia VEB del control .....	199
<b>Figura 4.28:</b> Línia VEB de la pacient .....	199
<b>Figura 4.29:</b> Cromatogrames corresponents a la validació de la mutació a <i>CTLA4</i> .....	200